

**UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA FRAKSI DAUN BELIMBING WULUH
(*Averrhoabilimbi* L.) TERHADAP BEBERAPA MIKROBA UJI**



SKRIPSI

Diajukan untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Meraih
Gelar Sarjana Farmasi Jurusan Farmasi
Pada Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan
UIN Alauddin Makassar

Oleh:

SYAMSUARNI RASAB
NIM. 70100112005

**FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI ALAUDDIN MAKASSAR**

2016

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Mahasiswa yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Syamsuarni Rasab
NIM : 70100112005
Tempat/TanggalLahir : Jeneponto, 15Desember 1994
Jur/Prodi/Konsentrasi : Farmasi
Alamat : Btn. Danau Alam PendidikanG15, Sungguminasa, Gowa.
Judul : Uji Aktivitas Antimikroba Fraksi Daun Belimbing Wuluh
(*Averrhoa bilimbi* L.) Terhadap Beberapa Mikroba Uji

Menyatakan dengan sesungguhnya dan penuh kesadaran bahwa skripsi ini benar adalah hasil karya sendiri. Jika di kemudian hari terbukti bahwa ia merupakan duplikat, tiruan, plagiat, atau dibuat oleh orang lain, sebagian atau seluruhnya, maka skripsi dan gelar yang diperoleh karenanya batal demi hukum.

Gowa, Maret 2016

Penyusun,

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
ALAUDDIN
M A K A S S A R

SYAMSUARNI RASAB
NIM. 70100112005

PENGESAHAN SKRIPSI

Skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Antimikroba Fraksi Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Terhadap Beberapa Mikroba Uji” yang disusun oleh Syamsuarni Rasab, NIM : 70100112005, Mahasiswa Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Alauddin Makassar, diuji dan dipertahankan dalam Ujian Sidang Skripsi yang diselenggarakan pada hari Senin, 30 Mei 2016 M yang bertepatan dengan 23 Sya’ban 1437 H, dinyatakan telah dapat diterima sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana dalam Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Jurusan Farmasi.

Makassar, 30 Mei 2016 M
23 Sya’ban 1437 H

DEWAN PENGUJI

Ketua : Dr. dr. H. Andi Armyn Nurdin, M.Sc (.....)

Sekretaris : Mukhriani, S.Si., M.Si., Apt. (.....)

Pembimbing I : Dra. Hj. Faridha Yenny Nonci, M.Si., Apt. (.....)

Pembimbing II : Andi Tenri Ugi, S.Si., M.Si. (.....)

Penguji I : Alifia Putri Febriyanti, S.Farm., M.Farm. Klin., Apt. (.....)

Penguji II : Dr. Hamzah Hasan, M.Hi. (.....)

Diketahui oleh:
Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan
UIN Alauddin Makassar,

Dr. dr. H. Andi Armyn Nurdin, M.Sc.
NIP. 19550203 198312 1 001

KATA PENGANTAR

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Assalamualaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Segala puji bagi Allah atas nikmat akal dan pikiran yang diberikan serta limpahan ilmu yang tiada hentinya sehingga penyusun dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi ini tepat pada waktunya. Shalawat dan salam juga tak lupa pula kita haturkan kepada Nabi besar junjungan kita Nabi Muhammad saw, keluarga, dan para sahabat serta orang-orang yang mengikutinya.

Skripsi dengan judul “Uji Aktivitas Antimikroba Fraksi Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Terhadap Beberapa Mikroba Uji” ini disusun sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Farmasi pada Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Jurusan Farmasi, Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar. Penulis menyadari bahwa tugas akhir ini bukanlah tujuan akhir dari belajar karena belajar adalah sesuatu yang tidak terbatas.

Dengan selesainya skripsi ini tentunya tak lepas dari dorongan dan uluran tangan berbagai pihak. Penulis menyadari banyaknya kendala yang dihadapi dalam penyusunan skripsi ini. Namun berkat doa, motivasi dan kontribusi dari berbagai pihak, maka kendala tersebut mampu teratasi dengan baik.

Penulis juga tak lupa menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Bapak/Ibu :

1. Orang tua tercinta, Ayahanda H. Rajamuddin S.Ag dan Ibunda Hj. Saribanong M.Pddengan penuh kasih sayang dan pengorbanan serta dukungan penuhnya baik berupa materi, nasehat, dan doa yang tulus, saudara-saudaraku Kasmiati Rasab, Salehuddin Rasabserta keluarga yang senantiasa memberikan restu dan doa'nya.
2. Prof. Dr. Musafir Pababbari, M.Si. selaku Rektor Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar yang telah memberikan kesempatan menyelesaikan studi di UIN Alauddin Makassar.
3. Dr. dr. H. Andi Armyn Nurdin, M.Sc.selaku Dekan Fakulas Ilmu Kesehatan UIN Alauddin Makassar.
4. Dr. Nur Hidayah, S.Kep., Ns., M.Kes.,selaku Wakil Dekan I Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Alauddin Makassar.
5. Dr. Andi Susilawaty, S.Si., M.Kes., selaku Wakil Dekan II Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Alauddin Makassar.
6. Dr. Mukhtar Lutfi, M.Pd., selaku Wakil Dekan III Fakulas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Alauddin Makassar.
7. Haeria, S.Si.,M.Si. selaku Ketua Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
8. Mukhriani, S.Si.,M.Si.,Apt selaku Sekretaris Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.

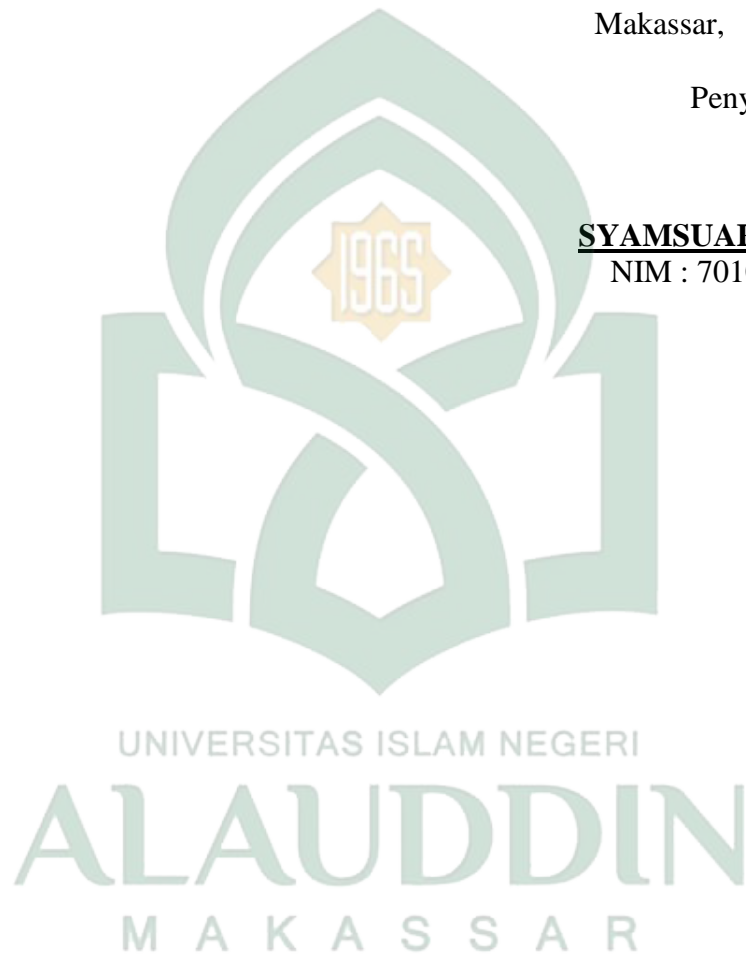
9. Dra. Hj. Faridha Yenny Nonci, S.Si., M.Si., Apt. selaku pembimbing pertama yang telah banyak memberikan bantuan dan pengarahan serta meluangkan waktu dan pikirannya dalam membimbing penulis.
10. Andi Tenriugi, S.Si., M.Si. selaku pembimbing kedua yang telah banyak memberikan bantuan dan pengarahan serta meluangkan waktu dan pikirannya dalam membimbing penulis.
11. Alifia Putri Febriyanti, S.Farm., M.Farm. Klin., Apt. selaku Penguji Kompetensi yang telah banyak memberikan bantuan dan pengarahan serta meluangkan waktu dan pikirannya dalam membimbing penulis.
12. Dr. Hamzah Hasan, M.Hi. selaku Penguji Agama yang telah banyak memberikan bantuan dan pengarahan serta meluangkan waktu dan pikirannya dalam membimbing penulis.
13. Syamsuri Sakri, S.Farm., M.Si., Apt. pelaksana kegiatan ujian akhir, yang telah banyak berusaha dan bekerja keras dalam membantu terselenggaranya ujian akhir.
14. Bapak, Ibu Dosen, serta seluruh Staf Jurusan Farmasi atas curahan ilmu pengetahuan dan segala bantuan yang diberikan pada penulis sejak menempuh pendidikan farmasi hingga saat ini.
15. Teman-teman angkatan 2012 “Isohidris” yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu. Terima kasih untuk semua kebersamaan selama ini. Kakanda angkatan 2005-2011 dan adinda angkatan 2013-2015 yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu.

Penulismenyadari bahwa skripsi ini masih banyak kekurangan dan kelemahan. Namun semoga skripsi ini dapat bermanfaat sebagai tambahan referensi ilmu pengetahuan. Amin.

Makassar, Maret 2016

Penyusun

SYAMSUARNI RASAB
NIM : 70100112005



DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL	i
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI.....	ii
PENGESAHAN SKRIPSI	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
ABSTRAK	xvi
ABSTRACT.....	xvii
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	4
C. Defenisi Operasional dan Ruang Lingkup Penelitian	4
1. Defenisi Operasional.....	4
2. Ruang Lingkup Penelitian.....	5
D. Kajian Pustaka.....	5
E. Tujuan dan Manfaat Penelitian	6
1. Tujuan Penelitian	7
2. Manfaat Penelitian	7

BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	8
A. Uraian Tanaman	8
1. Klasifikasi Tanaman.....	8
2. Nama Daerah.....	8
3. Nama Asing.....	9
4. Deskripsi Tanaman.....	9
5. Kandungan Kimia	10
7. Manfaat	10
B. Uraian Mikroba Uji	10
1. <i>Stapylococcus aureus</i>	10
2. <i>Pseudomonas aerigenosa</i>	11
3. <i>Escherichia coli</i>	12
4. <i>Salmonella thypi</i>	13
5. <i>Streptococcus mutans</i>	14
6. <i>Vibrio sp</i>	15
7. <i>Staphylococcus epidermidis</i>	15
8. <i>Bacillus subtilis</i>	16
9. <i>Candida albicans</i>	17
C. Antibakteri.....	18
1.Pengertian Antibakteri	18
2.Sifat Antibakteri	18
3.Prinsip Kerja Antibakteri.....	19

D. Antimikroba	19
E. Sterilisasi	20
1. Sterilisasi Uap.....	21
2. Sterilisasi Panas dan Kering	22
3. Sterilisasi Dengan Penyaringan	22
4. Sterilisasi Gas	23
5. Sterilisasi Dengan Radiasi Pengionan	23
F. Pengujian Aktivitas Antimikroba.....	23
1.Metode Difusi	23
2.Metode Dilusi	25
G.Ekstraksi	26
1.Pengertian Ekstraksi	26
2.Jenis-jenis Ekstraksi	26
3.Mekanisme Kerja	28
4.Tujuan Ekstraksi	28
H. Fraksinasi	29
I. Kromatografi Lapis Tipis	32
J. KLT-Bioautografi.....	34
1.Bioautografi Langsung	35
2.Bioautografi Kontak	35
3.Bioautografi Pencelupan.....	35
K. Tijauan Islam.....	36

BAB III METODE PENELITIAN.....	41
A. Jenis dan Lokasi Penelitian	41
1. Jenis Penelitian.....	41
2. Lokasi Penelitian.....	41
B. Pendekatan Penelitian	41
C. Sampel.....	42
D. Alat dan Bahan	42
1. Alat.....	42
2. Bahan.....	42
E. Prosedur Kerja.....	43
1. Pengambilan Sampel.....	43
2. Pengolahan Sampel	43
3. Ekstraksi Sampel.....	43
4. Fraksinasi Ekstrak Dengan KCV.....	44
5. Pemisahan Senyawa Secara KLT	44
6. Sterilisasi Alat	44
7. Pembuatan Medium.....	45
8. Penyiapan Mikroba Uji	46
9. Pembuatan Suspensi Mikroba.....	47
8. Pengujian Secara KLT-Bioautografi.....	47
9. Pengujian Potensi Antimikroba.....	47

10. Identifikasi Komponen Kimia.....	48
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	50
A. Hasil Penelitian	50
1. Hasil Ekstraksi Daun Belimbing Wuluh.....	50
2. Hasil Profil KLT Ektrak Etanol Daun Belimbing Wuluh.....	50
3. Hasil Profil KLT Fraksi Etanol Daun Belimbing Wuluh.....	51
3. Hasil Uji KLT-Bioautografi Fraksi Daun Belimbing Wuluh.....	52
4. Hasil Uji Potensi Antimikroba Fraksi Daun Belimbing Wuluh.....	53
5. Hasil identifikasi Komponen Kimia Daun Belimbing Wuluh	56
B. Pembahasan.....	57
BAB V PENUTUP.....	64
A. Kesimpulan.....	64
B. Saran.....	64
KEPUSTAKAAN	65
LAMPIRAN.....	67
DAFTAR RIWAYAT.....	94

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Hasil Ekstraksi Daun Belimbing Wuluh (<i>Averrhoa bilimbi</i> L.).....	50
2. Hasil Profil KLT Ekstrak Etanol 70% Daun Belimbing Wuluh (<i>Averrhoa bilimbi</i> L.)	50
3. Hasil Profil KLT Fraksi Etanol 70% Daun Belimbing Wuluh (<i>Averrhoa bilimbi</i> L.)	51
4. Hasil Uji KLT-Bioautografi Fraksi Etanol 70% Daun Belimbing Wuluh (<i>Averrhoa bilimbi</i> L.)Terhadap Mikroba Uji	52
5. Hasil Uji Potensi Antimikroba Fraksi Etanol 70% Daun Belimbing Wuluh (<i>Averrhoa bilimbi</i> L.)	53
6. Hasil Identifikasi Komponen Senyawa Fraksi Etanol 70% Daun Belimbing Wuluh (<i>Averrhoa bilimbi</i> L.)	56

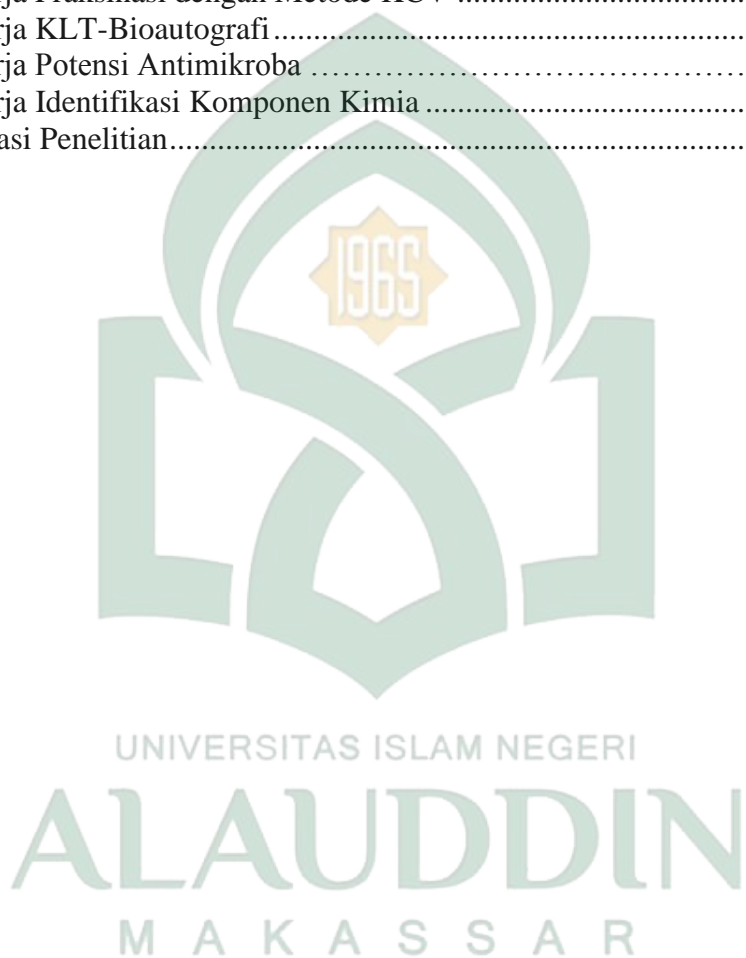


DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Tumbuhan belimbing wuluh (<i>Averrhoa bilimbi</i> L.)	72
2. Preparasi sampel daun belimbing wuluh (<i>Averrhoa bilimbi</i> L.)	73
3. Proses maserasi simplisia daun belimbing wuluh (<i>Averrhoa bilimbi</i> L.)	74
4. Proses evaporasi daun belimbing wuluh (<i>Averrhoa bilimbi</i> L.)	75
5. Fraksinasi Ekstrak Etanol 70% Daun Belimbing Wuluh (<i>Averrhoa bilimbi</i> L.)...	76
6. Hasil Identifikasi Profil KLT Ekstrak Etanol 70% Daun Belimbing Wuluh (<i>Averrhoa bilimbi</i> L.)	77
7. Hasil Identifikasi Profil KLT Fraksi Gabungan Daun Belimbing Wuluh (<i>Averrhoa bilimbi</i> L.)	78
8. Hasil Uji KLT-Bioautografi Fraksi Gabungan Daun Belimbing Wuluh (<i>Averrhoa bilimbi</i> L.)	79
9. Hasil Uji Potensi Antimikroba Fraksi Gabungan Daun Belimbing Wuluh (<i>Averrhoa bilimbi</i> L.)	88
10. Hasil Identifikasi Komponen Kimia Fraksi Aktif Daun Belimbing Wuluh (<i>Averrhoa bilimbi</i> L.)	93

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema Kerja Ekstraksi Daun Belimbing Wuluh (<i>Averrhoa bilimbi</i> L.)	67
2. Skema Kerja Fraksinasi dengan Metode KCV	68
3. Skema Kerja KLT-Bioautografi	69
4. Skema Kerja Potensi Antimikroba	70
5. Skema Kerja Identifikasi Komponen Kimia	71
6. Dokumentasi Penelitian.....	72



ABSTRAK

Nama : Syamsuarni Rasab

Nim : 70100112005

Judul : Uji Aktivitas Antimikroba Fraksi Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Terhadap Beberapa Mikroba Uji

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antimikroba pada fraksi daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dan komponen kimia yang mempunyai aktivitas antimikroba. Penelitian ini dilakukan untuk menunjang data ilmiah mengenai senyawa metabolit sekunder belimbing wuluh yang bertindak sebagai antimikroba dengan metode KLT-Bioautografi dan Uji Potensi antimikroba. Penelitian diawali dengan pemilihan sampel, pengeringan sampel dan ekstraksi dengan maserasi menggunakan etanol 70%. Ekstrak dipekatkan dengan rotavapor. Ekstrak aktif diidentifikasi profil KLT dengan eluen etil asetat : n-butanol (1:7), selanjutnya difraksinasi menggunakan KCV. Hasil fraksi kemudian diuji aktivitas antimikroba secara KLT-Bioautografi dilanjutkan dengan uji potensi antimikroba dan diidentifikasi bercak melalui penyemprotan dengan pereaksi warna untuk mengetahui kandungan senyawa aktif. Dari hasil penelitian diketahui bahwa fraksi gabungan III pada uji KLT-Bioautografi memiliki aktivitas antimikroba pada *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus mutans*, *Vibrio sp*, *Candida albicans* dengan nilai Rf 0,48, 0,57 dan 0,64 dan hasil uji potensi antimikroba konsentrasi 1000 ppm dan 750 ppm menunjukkan hambatan pada semua mikroba uji dan menunjukkan adanya kandungan senyawa flavonoid, fenol dan steroid.

Kata kunci : antimikroba, fraksi daun belimbing wuluh, flavonoid, fenol, steroid

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
ALAUDDIN
M A K A S S A R

ABSTRACT

Nama : Syamsuarni Rasab

Nim : 70100112005

Judul : Activity test of the Starfruit (*Averrhoa bilimbi* L.) leaves Fraction as Antimicrobial to against the some microbial test.

The purpose of this research were to detect the antimicrobial activity of the starfruit leaves fraction (*Averrhoa bilimbi* L.) and also to detect chemical substances of the starfruit leaves as antimicrobial. This research done to support the knowledge of the science about secondary metabolites of the starfruit as antimicrobial with Bioautography-Thin Layer Cromatography method and potentiation effect to some microbial. This research start with the sample selection, drying of the sample, and separate the chemical substances by using maceration method and also use an alcohol 70% as solvent. This extract evaporate by using a rotary evaporator. The most active extracts identified by Thin Layer Cromatography by using eluent ethyl acetate: n-butanol (1:7), then the sample fractionated by using the VLC (Vacum Liquid Chromatography). The results of the Bioautography-Thin Layer Cromatography which most active used to detect the antimicrobial potency detect chemical compound in this research and identified by spraying with a colour reagent to determine the active compound. The result of this research explain that the third fraction was most active as Antimicrobial on *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus mutans*, *Vibrio sp*, *Candida albicans* with Rf value of 0.48 , 0.57 and 0.64 and the result in the concentration of 1000 ppm and 750 ppm showed a drag on all the microbes and shows that it contains flavonoids, phenols and steroids.

Keywords: antimicrobial, starfruit leaves fraction, flavonoids, phenols, steroids

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Penyakit infeksi merupakan salah satu masalah dalam bidang kesehatan yang dari waktu ke waktu terus berkembang. Infeksi merupakan penyakit yang dapat ditularkan dari satu orang ke orang lain atau dari hewan ke manusia. Penyakit infeksi dapat disebabkan oleh empat kelompok besar hama penyakit yaitu bakteri, jamur, virus dan parasit (Djide, 2008: 262).

Salah satu penyebab infeksi adalah bakteri. Bakteri merupakan mikroorganisme yang tidak dapat dilihat dengan mata telanjang, tetapi hanya dapat dilihat dengan bantuan mikroskop (Radji, 2011: 14).

Pengendalian bakteri patogen penting dilakukan untuk mencegah penyebaran penyakit dan infeksi, serta membasmi bakteri patogen pada inang yang terinfeksi. Bakteri patogen merupakan bakteri yang memiliki kemampuan untuk menimbulkan penyakit pada manusia. Bakteri patogen dapat dihambat pertumbuhannya atau dibunuh dengan proses fisik (misalnya dengan pemanasan) atau bahan kimia (misalnya dengan antibiotika) (Djide, 2008: 262).

Keanekaragaman tumbuhan yang dimiliki Indonesia merupakan salah satu nikmat yang diberikan Sang Pencipta alam semesta. Oleh karena itu, sesungguhnya manusia patut bersyukur dan memanfaatkannya dengan baik. Banyak manfaat yang bisa didapatkan dari tumbuh-tumbuhan, yang paling umum adalah sebagai bahan masakan sehari-hari, sebagai bumbu, bahan obat dan sebagainya. Salah satu tanaman yang banyak tumbuh dipekarangan dan dimanfaatkan sehari-hari oleh masyarakat

Indonesia adalah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). Tanaman jenis ini dapat tumbuh di mana-mana dan mudah dikembangkan melalui metode cangkok.

Al-Qur'an banyak menyebut mengenai potensi tumbuh-tumbuhan yang dapat dimanfaatkan oleh manusia. Di antara ayat-ayat yang menjelaskannya adalah QS. Al-Asy-Syu'ara /26; 7

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾

Terjemahnya:

Dan Apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik? (Kementrian Agama RI, 2013 : 371).

Dari ayat tersebut, dapat dipahami bahwa Allah swt senantiasa mengisyaratkan kepada manusia untuk mengembangkan dan memperluas ilmu pengetahuan khususnya ilmu yang membahas tentang obat-obatan yang berasal dari alam, baik dari tumbuh-tumbuhan, hewan maupun mineral. Ketiga hal tersebut telah dijelaskan didalam Al-Qur'an mengandung suatu zat/obat yang dapat digunakan untuk menyembuhkan manusia dari penyakit.

Misalnya tumbuh-tumbuhan anggur, kurma, delima, dan sebagiannya lagi telah disebutkan lagi namanya oleh Allah dalam Al-Qur'an agar manusia dapat melakukan penelitian yang justru dapat menambah keyakinan seseorang kepada Allah swt. Di antara tumbuh-tumbuhan yang dapat dijadikan sebagai obat bagi penyakit tertentu ialah belimbing wuluh.

Belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) merupakan salah satu jenis tanaman yang sering digunakan sebagai obat tradisional. Tanaman ini banyak dimanfaatkan mengatasi berbagai penyakit seperti daunnya untuk mengatasi penyakit batuk, diabetes, rematik, gondongan, sariawan, sakit gigi, diare sampai tekanan darah tinggi, dan buahnya untuk mengatasi penyakit seperti jerawat, gusi berdarah, panu, dan

memperbaiki fungsi pencernaan. Bagian tanaman yang sering digunakan sebagai obat adalah daun dan buahnya (Arief, 2009: 10).

Kandungan senyawa aktif dalam daun belimbing wuluh adalah tanin, sulfur, asam format, dan flavonoid. Senyawa metabolit sekunder pada tumbuhan misalkan flavonoid, tanin dan saponin berdasarkan beberapa hasil penelitian diduga mempunyai kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri, di dalam daun belimbing wuluh senyawa metabolit sekunder yang diduga memiliki aktivitas antimikroba adalah flavonoid dan tanin. Penggunaan daun belimbing wuluh sebagai antibakteri misalnya sebagai pengawet alami sangat efisien karena jumlahnya melimpah, tanaman ini juga sangat mudah didapatkan (Arief, 2009:20).

Daun belimbing wuluh dapat digunakan untuk gangguan kulit seperti jerawat dan panu yaitu dengan cara daun belimbing wuluh dicuci bersih, lalu digiling atau ditumbuk hingga halus sampai seperti bubur. Setelah itu, tapal ini lalu ditempelkan pada kulit yang mengalami gangguan (Ismawan, 2010: 214).

Selain itu juga daun belimbing wuluh mengandung senyawa peroksida merupakan senyawa pengoksidasi dan kerjanya tergantung pada kemampuan pelepasan oksigen aktif dan reaksi ini mampu membunuh banyak mikroorganisme (Arif, 2009: 20).

Berbagai hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) tidak hanya buahnya yang dapat dijadikan sebagai obat, tetapi daunnya juga yang justru dapat menyembuhkan dari berbagai jenis penyakit dan dapat pula menjadi bahan pengawet.

Berdasarkan uraian tersebut, maka dilakukan penelitian tentang “Uji Aktivitas Antimikroba Fraksi Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap beberapa mikroba uji”.

B. Rumusan Masalah

1. Apakah fraksi daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) mempunyai aktivitas antimikroba terhadap beberapa mikroba uji ?
2. Komponen kimia apakah yang terdapat pada fraksi daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) yang mempunyai aktivitas sebagai antimikroba ?
3. Bagaimana tinjauan islam tentang penelitian uji aktivitas antimikroba fraksidaun belimbing wuluh(*Averrhoa bilimbi* L.)terhadap beberapa mikroba uji ?

C. Definisi Operasional dan Ruang Lingkup Penelitian

1. Definisi Operasional

a. Aktivitas antimikroba

Merupakan suatu sifat yang dimiliki oleh ekstrak etanol tanaman yang dapat menghambat dan membunuh pertumbuhan mikroba.

b. Bakteri Uji

Merupakan kultur biakan bakteri patogen yang bersifat merugikan bagi kesehatan manusia yang digunakan pada uji aktivitas antimikroba fraksi daun belimbingwuluh (*Averrhoa bilimbi* L.).

c. Ekstrak

Merupakan sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan.

d. Etanol merupakan pelarut yang digunakan untuk mengekstraksi sampel daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.).

e. Fraksi

Merupakan suatu hasil dari proses pemisahan komponen-komponen kimia yang terkandung dalam ekstrak etanol yang dipisahkan melalui beberapa metode tertentu.

f. KLT-Bioautografi

Merupakan suatu metode pendeteksian untuk menemukan suatu senyawa antimikroba pada fraksi tidak larut n-heksan yang belum teridentifikasi dengan cara melokalisasi aktivitas antimikroba tersebut pada suatu kromatogram.

2. Ruang Lingkup penelitian

Penelitian ini menentukan aktivitas antimikroba fraksi daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dengan menggunakan beberapa mikroba uji.

D. Kajian Pustaka

Dalam kajian pustaka dibahas beberapa temuan hasil penelitian sebelumnya untuk melihat kejelasan arah, originalitas, kemanfaatan, dan posisi dari penelitian ini, dibandingkan dengan beberapa temuan penelitian yang dilakukan sebelumnya

1. Qurrotu A'yunin Lathifah (2008), uji efektivitas ekstrak kasar senyawa antibakteri pada buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dengan variasi pelarut. Dalam penelitian ini meliputi ekstraksi yang dilakukan dengan metode maserasi 5 jenis pelarut yang berbeda kepolarannya yaitu aquadest, metanol, etanol, kloroform, petroleum eter. Pengujian golongan senyawa aktif antibakteri dilakukan dengan metode tabung dan didukung oleh identifikasi spektrofotometer FTIR. Uji efektifitas antibakteri dilakukan terhadap antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* menggunakan metode difusi cakram dengan konsentrasi ekstrak 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400 dan 450 mg/ml. hasil penelitian menunjukkan bahwa etanol merupakan pelarut terbaik untuk memperoleh ekstrak kasar senyawa antibakteri pada buah

belimbing wuluh. Hasil uji golongan senyawa aktif antibakteri menunjukkan bahwa dalam ekstrak terbaik buah belimbing wuluh terkandung golongan senyawa flavonoid dan triterpenoid.

2. Masithah Khairul Ummah (2010), ekstraksi dan pengujian aktivitas antibakteri senyawa tanin pada daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). Dalam penelitian ini bertujuan untuk memanfaatkan bahan alam sebagai antibakteri alami. Penelitian ini meliputi ekstraksi yang dilakukan dengan metode maserasi menggunakan 4 jenis pelarut yang berbeda yaitu air hangat, metanol, etanol, dan aseton:air (7:3). Penentuan pelarut terbaik hasil ekstraksi adalah dengan menggunakan metode *Lowenthal-Procter*. Uji efektifitas antibakteri dilakukan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* menggunakan metode difusi cakram dengan konsentrasi ekstrak 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, dan 400 mg/ml. Hasil penelitian menunjukkan bahwa berdasarkan uji fitokimia daun belimbing wuluh mengandung senyawa tanin. Pelarut terbaik yang dapat mengekstrak tanin dengan kadar tertinggi adalah Aseton:air (7:3). Hasil perhitungan zona hambat ekstrak tanin dari pelarut terbaik terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 50 mg/ml:6,1 mm, 100 mg/ml:6,3 mm, 150 mg/ml:7,1 mm, 200 mg/ml:10,67 mm, 250 mg/ml:11,6 mm, 300 mg/ml:13,5 mm, 350 mg/ml:14,16 mm, dan 400 mg/ml:15,1 mm. nilai zona hambat untuk *Escherichia coli* pada konsentrasi 50 mg/ml:7,4 mm, 100 mg/ml:9,7 mm, 150 mg/ml:11,2 mm, 200 mg/ml:12,6 mm, 250 mg/ml:13 mm, 300 mg/ml:13,9 mm, 350 mg/ml:14,2 mm, dan 400 mg/ml:15,27 mm. konsentrasi terbaik untuk kedua bakteri adalah 400 mg/ml, dan berdasarkan hasil zona hambat yang terbentuk bahwa senyawa tanin bersifat resisten terhadap kedua bakteri uji.

E. Tujuan dan Manfaat Penelitian

1. Tujuan Penelitian

- a. Mengetahui aktivitas antimikroba fraksi daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap beberapa mikroba uji
- b. Mengetahui komponen kimia pada hasil fraksi daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) yang mempunyai aktivitas sebagai antimikroba.
- c. Mengetahui tinjauan islam tentang penelitian uji aktivitas antimikroba fraksi daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap beberapa mikroba uji.

2. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini yaitu dapat menambah informasi ilmiah, pengetahuan serta gambaran kepada penulis dan masyarakat luas terutama dalam penemuan senyawa aktif yang bersifat sebagai antimikroba dari bahan alam khususnya daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap beberapa mikroba uji yang dapat mendukung pengembangan ekstrak daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) sebagai sumber senyawa bioaktif.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Uraian tanaman

1. Klasifikasi (Steenis, 2006: 235-236)

Filum : Plantae
Divisi : Spermathophyta
Sub divisi : Angiospermae
Kelas : Dicotyledonae
Ordo : Geraniales
Famili : Oxalidaceae
Genus : *Averrhoa*
Spesies : *Averrhoa bilimbi* L.

2. Nama Daerah

Tumbuhan belimbing wuluh dalam bahasa bugis disebut caneneng. Dibeberapa daerah, belimbing wuluh dikenal dengan nama lain seperti Bainang (Makassar), Limeng (Aceh), Selemeng (Gayo), Malibi (Halma-hera), Asom, balimbing (Batak), Malimbi (Nias), Bainang (Makassar), Blimbing buloh (Bali), Bhalimbing bulu (Madura), Belimbing asem (Melayu), Calincing (Sunda), Blimbing wuluh (Jawa Tengah), Limbi (Bima), Uteke (Irian) (Parikesit, 2011: 5).

3. Nama Asing

Bilimbi, Starfruit (Inggris), Zibeline (Perancis), Pepino de Indias (Spanyol, Argentina), Bilimbinaum (Jerman), Birinbi (Jepang), Mu hu gua (China), Taling pling (Thailand), Kamias (Filifina), Belimbing Buloh (Bali), Billing-billing (Malaysia) (Ismawan, 2010: 210).

4. Deskripsi tanaman

Tanaman yang disebut juga sebagai belimbing sayur itu merupakan tumbuhan yang hidup pada ketinggian 5 hingga 500 meter diatas permukaan laut. Tanaman ini mudah sekali tumbuh dan berkembangbiak melalui cangkok.

Pohon belimbing wuluh bisa tumbuh dengan ketinggian mencapai 5-10 meter. Batang utamanya pendek dan cabangnya rendah. Batang bergelombang (tidak rata). Daunnya majemuk, berselang-seling, panjang 30-60 cm dan berkelompok di ujung cabang. Pada setiap daun terdapat 11 sampai 37 anak daun yang berselang-seling atau setengah berpasangan. Anak daun berbentuk oval.

Di daerah Sulawesi selatan, daun belimbing wuluh dipercaya sebagai obat gangguan kulit seperti gatal, gendongan,serta menghilangkan bekas cacar, dimana buahnya juga dipercaya sebagai obat jerawat, gusi berdarah, dan panu.

Batangnya kecil, muncul langsung dari batang dengan tangkai bunga berambut. Mahkota bunga biasanya berjumlah lima, berwarna putih atau kuning. Tempat tumbuh yaitu daerah dengan ketinggian hingga 500 m dari permukaan laut yang merupakan tempat penyebarannya.

Buah belimbing berbentuk elips hingga seperti torpedo, dengan panjang 4-10 cm. warna buah ketika muda berwarna hijau, dengan sisa kelopak bunga menempel di ujungnya.

Jika masak buahnya berwarna kuning atau kuning pucat. Daging buahnya berair dan sangat asam. Kulit buah berkilap tipis. Bijinya kecil sekitar 6 mm, berbentuk pipih, dan berwarna coklat, serta tertutup lendir (Arief, 2009: 9-10).

5. Kandungan kimia

Pada bagian daun mengandung tanin, sulfur, asam format dan flavonoid. Buah mengandung asam askorbat, niasin, riboflavin, karoten, tiamin, kalsium, besi, serat, dan protein. Batang mengandung saponin, tanin, glukosida, kalsium oksalat, sulfur, asam format, peroksida, kalsium oksalat, kalium oksalat (Ismawan, 2010: 212).

6. Manfaat tanaman

Daunnya untuk mengatasi penyakit batuk, diabetes, rematik, gondongan, sariawan, sakit gigi, diare samapai tekanan darah tinggi dan buahnya untuk mengatasi penyakit seperti jerawat, gusi berdarah, panu dan memperbaiki fungsi pencernaan (Arief, 2009: 10-11).

B. Uraian Mikroba Uji

Mikroba uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Eschericia coli*, *Salmonella thypi*, *Streptococcus mutans*, *Vibrio sp*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*.

1. *Staphylococcus aureus*

a. Klasifikasi (Garrity, 2004; 24-187)

Domain : Bacteria

Phylum : Firmicutes

Class : Bacilli

Ordo : Bacillales

Familia : Staphylococcaceae

Genus : Staphylococcus

Spesies : *Staphylococcus aureus*

b. Sifat dan morfologi

Staphylococcus aureus adalah bakteri gram positif. Sel-sel berbentuk bola, berdiameter 0,5-1,5 μm , terdapat dalam tunggal dan berpasangan dan secara khas membelah diri pada lebih dari satu bidang sehingga membentuk gerombolan yang tidak teratur. Untuk membiakkan bakteri *Staphylococcus aureus* diperlukan suhu yang optimal sekitar 35-40⁰ C dan pH optimal untuk pertumbuhan *Staphylococcus aureus* adalah 7,4. Tidak diketahui adanya stadium istirahat.

Pada lempeng agar, koloni *Staphylococcus aureus* berbentuk bulat, diameter 1-2 mm, cembung, buram, mengkilat dan konsistensinya lunak. Warna khas adalah kuning keemasan, hanya intensitasnya bervariasi.

Dinding sel mengandung dua komponen utama yaitu peptidoglikan dan asam teikoat yang berkaitan dengannya. Metabolisme dengan respirasi dan fermentatif.

Bersifat anaerob fakultatif, tumbuh lebih cepat dan lebih banyak dalam keadaan aerobik, suhu optimum 35 – 40°C. Terutama berasosiasi dengan kulit, dan selaput lendir hewan berdarah panas. Kisaran inangnya luas, dan banyak galur merupakan patogen potensial (Pelczar, 2008: 954-955).

2. *Pseudomonas aeruginosa*

a. Klasifikasi (Garrrity, et al. 2004: 24-95)

Domain : Bacteria

Phylum : Proteobacteria

Class : Gammaproteobacteria

Ordo : Pseudomonadales

Familia : Pseudomonadaceae

Genus : Pseudomonas

Spesies : *Pseudomonas aeruginosa*

b. Sifat dan morfologi

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri gram negatif dengan berbentuk sel tunggal, batang lurus atau melengkung, namun tidak berbentuk heliks. Pada umumnya berukuran 0,5 – 1,0 µm. motil dengan flagellum polar, monotrikus atau multitrikus. Tidak menghasilkan selongsong prosteka. Tidak dikenal adanya stadium istirahat. Metabolisme dengan respirasi, tidak pernah fermentatif.

Beberapa merupakan kemolitotrof fakultatif, dapat menggunakan H₂ sebagai sumber energi.

Oksigen molekuler merupakan penerima elektron universal, beberapa dapat melakukan denitrifikasi dengan menggunakan nitrat sebagai penerima pilihan (Pelczar, 2008: 952).

3. *Escherichia coli*

a. Klasifikasi (Garrity, et al. 2004: 24-141)

Domain : Bacteria

Phylum : Proteobacteria

Class : Gammaproteobacteria

Ordo : Enterobacteriales

Familia : Enterobacteriaceae

Genus : Escherichia

Spesies : *Escherichia coli*

b. Sifat dan morfologi

Escherichia coli merupakan bakteri gram negatif berbentuk batang lurus, 1,1-1,5 μm x 2,0-6,0 μm , motil dengan flagellum perittrikus atau non motil. Tumbuh dengan mudah pada medium nutrient sederhana. Laktosa difermentasi oleh sebagian besar galur dengan produksi asam dan gas. Penyebab utama diare kronik (Pelczar, 2008: 949).

4. *Salmonella thypi*

a. Klasifikasi (Garrity, et al. 2004: 24-122)

Domain : Bacteria

Phylum : Proteobacteria

Class : Gammaproteobacteria

Ordo : Enterobacteriales

Familia : Enterobacteriaceae

Genus : Salmonella

Spesies : *Salmonella thypi*

b. Sifat dan morfologi

Salmonella thypi adalah bakteri gram negatif berbentuk batang lurus dengan ukuran 0,7-1,5 μm , biasanya tunggal dan kadang-kadang membentuk rantai pendek, jenis yang bergerak berflagella peritrik, hidup secara aerobik dan anaerobik fakultatif, meragikan glukosa dengan menghasilkan asam kadang-kadang gas.

Tumbuh optimal pada suhu 37°C dan berkembang biak pada suhu kamar, bakteri ini dapat ditemukan disaluran pencernaan manusia dan hewan. Bakteri ini merupakan penyebab demam tifoid karena adanya infeksi akut pada usus halus manusia dan hewan. Penyebab utama tifoid dan infeksi saluran kemih (Pelczar, 2008: 953).

5. *Streptococcus mutans*

a. Klasifikasi (Garrrity, et al. 2004: 24-203)

Domain : Bacteria

Phylum : Firmicutes

Class : Bacilli

Ordo : Lactobacillales

Familia : Streptococcaceae

Genus : Streptococcus

Spesies : *Streptococcus mutans*

b. Sifat dan morfologi

Streptococcus mutans bentuk bulat, termasuk bakteri gram positif dan biasanya tidak berpigmen. Berdiameter 0,5-1,5 µm, koloni bulat cembung dengan permukaan licin atau sedikit kasar dan tepi seluruhnya atau sebagian tidak beraturan.

Koloni buram bewarna biru terang, bersifat fakultatif aerob, dapat tumbuh pada suhu 45°C dan suhu optimumnya. Dinding sel terdiri dari 4 komponen antigenik yaitu peptidoglikan, polisakarida, protein dan asam lipokoat. Menyebabkan karies pada gigi (Pelczar, 2008: 955).

6. *Vibrio sp*

a. Klasifikasi (Garrrity, et al. 2004: 24-109)

Domain : Bacteria

Phylum : Proteobacteria

Class : Gammaproteobacteria

Ordo : Vibrionales

Familia : Vibrionaceae

Genus : *Vibrio*

Spesies : *Vibrio sp*

b. Sifat dan morfologi

Vibrio sp adalah bakteri gram negatif berbentuk batang pendek, tidak membentuk spora, sumbunya melengkun atau lurus 0,5µm, terdapat tunggal atau kadang-kadang bersatu dalam bentuk S atau spiral. Motil dengan satu flagellum polar atau pada beberapa spesies dengan dua atau lebih flagellum dalam satu berkas polar.

Mempunyai sferoplas, biasanya dibentuk dalam keadaan lingkungan yang kurang menguntungkan, tidak tahan asam, dan tidak membentuk kapsul, tumbuh baik dan cepat pada medium nutrient baku, metabolisme dengan respirasi dan fermentatif.

Suhu optimum berkisar dari 18 sampai 37⁰C. Menyebabkan penyakit kolera (Pelczar, 2008: 956).

7. *Staphylococcus epidermidis*

a. Klasifikasi (Garrrity, et al. 2004: 24-187)

Domain : Bacteria

Phylum : Firmicutes

Class : Bacilli

Ordo : Bacillales

Familia : Staphylococcaceae

Genus : Staphylococcus

Spesies : *Staphylococcus epidermidis*

b. Sifat dan morfologi

Staphylococcus epidermidis adalah bakteri gram positif. Sel-sel berbentuk bola, berdiameter 0,5-1,5 μm , terdapat dalam tunggal dan berpasangan dan secara khas membelah diri pada lebih dari satu bidang.

Anaerob fakultatif, tumbuh lebih cepat dan lebih banyak dalam keadaan aerobik. Suhu optimum 35°C - 40°C . Terutama berkolonisasi dengan kulit, dan selaput lendir hewan berdarah panas. Menyebabkan infeksi pada kulit, gatal dan jerawat (Pelczar, 2008: 954).

8. *Bacillus subtilis*

a. Klasifikasi (Garrrity, et al. 2004: 24-172)

Domain : Bacteria

Phylum : Firmicutes

Class : Bacilli

Ordo : Bacillales

Familia : Bacillaceae

Genus : Bacillus

Spesies : *Bacillus subtilis*

b. Sifat dan morfologi

Bacillus subtilis memiliki sel berbentuk batang 0,3-2,2 μm x 1,27-7,0 μm , sebagian besar motil, flagellum khas lateral. Membentuk endospora, tidak lebih satu sel sporangium. Termasuk bakteri gram positif, bersifat kemoorganotrof. Metabolisme dengan respirasi sejati, fermentasi sejati, atau kedua-duanya, yaitu respirasi dan fermentasi. Aerobik sejati atau anaerobik fakultatif. Menyebabkan keracunan pada makanan dan bisul (Pelczar, 2008: 947).

9. *Candida albicans*

a. Klasifikasi (Simatupang, 2009: 4)

Phylum : Thallophyta

Sub diviso : Deuteromycota

Class : Deuteromycetes

Familia : Cryptococaceae

Genus : Candida

Spesies : *Candida albicans*

b. Sifat dan morfologi

Candida albicans merupakan jamur dimorfik karena kemampuannya karena kemampuannya untuk tumbuh dalam dua bentuk yang berbeda yaitu sebagai sel tunas yang akan berkembang menjadi blastospora dan menghasilkan kecambah yang akan membentuk hifa semu. Di dalam medium cair dapat berbentuk endapan, cincin, dan pelikel. Menyebabkan penyakit kandidiasis (Simatupang, 2009: 5).

C. Antibakteri

1. Pengertian Antibakteri

Antibakteri adalah obat pembasmi bakteri, khususnya bakteri yang merugikan manusia. Suatu antibakteri yang ideal memiliki toksisitas yang selektif, berarti obat antibakteri tersebut hanya berbahaya bagi bakteri, tetapi relatif tidak membahayakan bagi hospes.

Obat-obat yang digunakan untuk membasmi mikroorganisme yang menyebabkan infeksi pada manusia, hewan maupun tumbuhan harus bersifat toksisitas selektif artinya obat atau zat tersebut harus bersifat toksik terhadap mikroorganisme penyebab penyakit tetapi relatif tidak toksik terhadap jasad inang atau hospes (Djide, 2008: 455).

2. Sifat Antibakteri

a. Bakteriostatika

Zat atau bahan yang dapat menghambat atau menghentikan pertumbuhan mikroorganisme (bakteri). Dalam keadaan seperti ini jumlah mikroorganisme menjadi stasioner, tidak dapat lagi bermultiplikasi dan berkembang biak. Contoh sulfonamid, tetrasiklin, kloramfenikol, dan eritromisin.

b. Bakteriosida

Zat atau bahan yang dapat membunuh mikroorganisme (bakteri). Dalam hal ini jumlah mikroorganisme (bakteri) akan berkurang atau bahkan habis, tidak dapat lagi melakukan multiplikasi atau berkembang biak. Contoh penisilin, sefalosporin, dan neomisin (Djide, 2008: 458).

3. Prinsip Kerja Antibakteri

Suatu antibakteri memperlihatkan toksisitas yang selektif, dimana obatnya lebih toksik terhadap mikroorganismenya dibandingkan pada sel hospes. Hal ini dapat terjadi karena pengaruh obat yang selektif terhadap mikroorganisme atau karena obat pada reaksi-reaksi biokimia yang penting dalam sel parasit lebih unggul dari pada pengaruhnya terhadap hospes.

Disamping itu struktur sel mikroorganisme berbeda dengan struktur sel manusia (hospes, inang) (Djide, 2008: 460).

D. Antimikroba

Antimikroba adalah bahan-bahan atau obat-obatan yang digunakan untuk membunuh infeksi mikroba pada manusia termasuk diantaranya antibiotik, antiseptik, desinfektan, dan preservatif (Djide, 2008: 339).

Obat-obat yang digunakan untuk membasmi mikroorganisme yang menyebabkan infeksi pada manusia, hewan, maupun tumbuhan harus bersifat toksisitas selektif artinya obat atau zat tersebut harus bersifat toksik terhadap mikroorganisme penyebab penyakit tetapi relatif tidak toksik terhadap jasad inang atau hospes (Djide, 2008: 339).

Antimikroba mempunyai mekanisme kerja utama ada lima cara antara lain sebagai berikut:

1) Penginaktifan enzim tertentu

Senyawa antiseptika dan desinfektansia, seperti turunan aldehida, amida, karbanilid, etilen-oksida, halogen, senyawa-senyawa merkuri dan senyawa ammonium kuarternar.

2) Denaturasi protein

Turunan alkohol, halogen dan halogenator, senyawa merkuri, peroksida, turunan fenol dan senyawa ammonium kuarterner bekerja sebagai antiseptika dan desinfektansia dengan cara denaturasi dan konjugasi protein sel bakteri.

3) Mengubah permeabilitas membran sitoplasma bakteri

Cara ini adalah model kerja dari turunan amin dan guanidin, turunan fenol dan senyawa-senyawa tersebut dapat menyebabkan bocornya konstituen sel yang esensial, sehingga bakteri mengalami kematian.

4) Menghambat sintesis DNA

Beberapa zat warna seperti turunan triebilmetan dan turunan akridin, bekerja sebagai antibakteri dengan mengikat secara kuat asam nukleat, menghambat sintesa DNA dan menyebabkan perubahan kerangka mutasi pada sintesis protein.

5) Pembentukan khelat

Beberapa turunan fenol, seperti heksoklorofen dan oksikuinolin dapat membentuk khelat dengan Fe dan Cu, kemudian bentuk khelat tersebut masuk kedalam sel bakteri. Kadar yang tinggi dari ion-ion logam di dalam sel menyebabkan gangguan fungsi enzim-enzim, sehingga mikroorganisme mengalami kematian (Djide, 2008: 460).

E. Sterilisasi

Sterilisasi dalam mikrobiologi merupakan proses penghilangan semua jenis organisme hidup, dalam hal ini adalah mikroorganisme (protozoa, fungi, bakteri, mycoplasma, virus) yang terdapat pada suatu benda. Proses ini melibatkan proses fisik dengan tujuan untuk membunuh atau menghilangkan mikroorganisme (Jawets, 2005: 18).

Lima metode yang umum digunakan untuk mensterilkan yaitu:

1. Sterilisasi uap

Sterilisasi uap dilakukan dalam autoklaf dan menggunakan uap air dengan tekanan. Sebagian besar produk farmasi tidak tahan panas dan tidak dapat dipanaskan dengan aman pada temperatur yang dibutuhkan untuk sterilisasi panas kering (lebih kurang 170°C).

Bila ada kelembaban (uap air), bakteri terkoagulasi dan dirusak pada temperatur yang lebih rendah daripada bila tidak ada kelembaban. Mekanisme penghancuran bakteri oleh uap air panas adalah karena terjadinya denaturasi dan koagulasi beberapa protein esensial organisme tersebut.

Sebagian besar autoklaf dioperasikan secara rutin biasanya pada temperatur 121°C , yang diukur pada saat uap air mulai keluar dari autoklaf. Waktu yang dibutuhkan oleh uap air untuk menembus beban yang disterilkan berbeda-beda tergantung pada sifat beban yang disterilkan, dan waktu pemaparan harus diatur untuk memperhitungkan masa laten ini.

Pada umumnya metode sterilisasi ini digunakan untuk sediaan farmasi dan bahan-bahan yang dapat tahan terhadap temperatur yang dipergunakan dan penembusan uap air, tetapi tidak timbul efek yang tidak dikehendaki akibat uap air tersebut. Metode ini dipergunakan untuk larutan dalam jumlah besar, alat-alat gelas, pembalut operasi dan instrument.

Tidak digunakan untuk mensterilkan minyak-minyak, lemak-lemak, sediaan-sediaan lain yang tidak dapat ditembus oleh uap air atau pensterilan serbuk terbuka yang mungkin rusak oleh uap air.

2. Sterilisasi panas dan kering

Sterilisasi panas kering biasanya dilakukan dengan oven pensteril yang dirancang khusus untuk tujuan ini. Oven dapat dipanaskan dengan gas atau listrik dan umumnya temperatur diatur secara otomatis.

Karena panas dan kering kurang efektif dalam membunuh bakteri daripada uap air panas, maka diperlukan temperatur yang lebih tinggi dan waktu yang lebih panjang.

Biasanya ditetapkan pada temperatur 160°C - 170°C dengan waktu yang tidak kurang dari 2 jam. Kemudian oleh pemanasan kering timbul karena sel mikroba mengalami dehidrasi diikuti dengan pembakaran pelan-pelan atau proses oksidasi.

Umumnya digunakan untuk senyawa-senyawa yang tidak efektif disterilkan dengan uap air panas. Efektif untuk sterilisasi alat-alat gelas, dan alat-alat bedah.

3. Sterilisasi dengan penyaringan

Sterilisasi dengan penyaringan tergantung pada penghilangan mikroba secara fisik dengan adsorpsi pada media penyaring atau dengan mekanisme penyaringan, digunakan untuk sterilisasi larutan yang tidak tahan panas.

Penyaring-penyaring yang ada diperdagangan dibuat dengan berbagai kekhususan ukuran pori.

Salah satunya penyaring Millipore dengan ukuran pori 14-0,0025 mikrometer.

Keuntungan utama saringan bakteri meliputi kecepatan pada penyaringan sejumlah kecil larutan,

Kemampuan untuk mensterilkan secara efektif materi-materi yang tidak tahan panas, dan mikroba hidup dan mati serta partikel-partikel lengkap semua dihilangkan dari larutan.

4. Sterilisasi gas

Beberapa senyawa yang tidak tahan terhadap panas dan uap dapat disterilkan dengan baik dengan memaparkan gas etilen oksida atau propilen oksida. Gas-gas ini sangat mudah terbakar bila bercampur dengan udara, tetapi dapat digunakan dengan aman bila diencerkan dengan gas inert seperti karbondioksida.

Umumnya sterilisasi dengan gas etilen oksida memerlukan waktu paparan 4-16 jam. Diduga kerja etilen oksida sebagai zat pensteril adalah dengan mengganggu metabolisme sel bakteri.

5. Sterilisasi dengan radiasi pengionan

Teknik sterilisasi dengan sinar gamma dan sinar katoda, tetapi penggunaan teknik ini terbatas karena memerlukan peralatan yang sangat khusus dan pengaruh radiasi pada produk dan wadah.

Mekanisme yang pasti mengenai pensterilan obat atau sediaan dengan radiasi masih diselidiki. Satu dari beberapa teori yang diajukan adalah ikut terlihat dalam perubahan kimiawi atau membantu mikroorganisme membentuk senyawa kimia baru yang dapat merusak sel (Djide, 2008 : 191-194).

F. Pengujian aktivitas antimikroba

Kegunaan uji antimikroba adalah agar diperoleh suatu sistem pengobatan yang efektif dan efisien.

Terdapat bermacam-macam metode dalam melakukan pengujian antimikroba yaitu diantaranya adalah:

1. Metode Difusi

Metode difusi ini terbagi dalam beberapa metode yaitu:

a. Metode desc diffusion

Metode ini digunakan untuk menentukan aktivitas agen mikroba, dimana piringan yang berisi agen antimikroba diletakkan pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme yang akan berdifusi pada media agar tersebut. Area jernih mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba pada permukaan media agar.

b. E-test

Pada metode ini digunakan strip kertas plastik yang mengandung agen antimikroba dari kadar terendah hingga tertinggi dan diletakkan dipermukaan media agar yang telah ditanami mikroorganisme. Pengamatan dilakukan pada area jernih yang ditimbulkannya yang menunjukan agen antimikroba yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme pada media agar.

c. Ditch-plate technique

Pada metode ini sampel uji berupa agen antimikroba yang diletakkan pada parit yang dibuat dengan cara memotong media agar dalam cawan petri pada bagian tengah secara membujur dan mikroba uji (maksimum enam macam) digoreskan kearah parit yang berisi agen antimikroba.

d. Cup-plate

Metode ini serupa dengan metode desc-diffusion dimana dibuat sumur pada media agar yang telah ditanami oleh mikroorganisme dan pada sumur tersebut diberi agen antimikroba yang akan diuji.

e. Gradient-lat technique

Pada metode ini konsentrasi agen antimikroba pada media agar secara teoritis bervariasi dari nol hingga maksimal. Media agar dicairkan dan larutan uji ditambahkan.

Campuran kemudian dituang kedalam cawan petri dan diletakkan pada posisi miring. Nutrisi kedua selanjutnya dituang di atasnya. Plate diinkubasi selama 24 jam untuk memungkinkan agen antimikroba berdifusi dan permukaan media mengering. Mikroba uji maksimal enam macam digoreskan pada arah mulai dari konsentrasi tinggi ke rendah. Hasil diperhitungkan sebagai panjang total pertumbuhan hasil goresan (Pratiwi, 2008: 123).

2. Metode dilusi

Metode dilusi, metode ini dibedakan menjadi dua yaitu dilusi cair (broth dilution) dan dilusi padat (solid dilution).

a. Metode dilusi cair/broth dilution test

Metode ini mengukur MIC (minimum inhibitory concentration) atau kadar hambat minimum (KHM) dan MBC (minimum bactericidal concentration atau kadar bunuh minimum (KBM). Cara yang dilakukan adalah dengan membuat seri pengenceran agen antimikroba pada medium cair yang ditambahkan dengan mikroba uji.

Larutan uji agen antimikroba pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan mikroba uji ditetapkan sebagai KHM.

Larutan yang ditetapkan sebagai KHM tersebut selanjutnya dikultur ulang pada media padat tanpa penambahan mikroba uji ataupun agen antimikroba, dan diinkubasi selama 18-24 jam. Medium cair yang tetap terlihat jernih setelah inkubasi ditetapkan sebagai KBM.

b. Metode dilusi padat/solid dilution test

Metode ini serupa dengan metode dilusi cair namun menggunakan media padat (solid). Keuntungan metode ini adalah satu konsentrasi agen antimikroba yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji (Pratiwi, 2008: 124).

G. Metode Ekstraksi Bahan Alam

1. Pengertian ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu proses penarikan komponen aktif yang terkandung dalam tanaman menggunakan bahan pelarut yang sesuai dengan kelarutan komponen aktifnya (Dirjen POM, 2000:81).

2. Jenis-jenis ekstraksi

Proses ekstraksi dapat dilakukan secara panas dan secara dingin. Ekstraksi secara panas yaitu dengan metode refluks, soxhletasi, digesti, infuse, dekok dan destilasi uap air, sedangkan ekstraksi dingin yaitu maserasi dan perkolasi.

Adapun metode yang dapat digunakan dalam ekstraksi sampel yaitu:

a. Maserasi

Maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana. Maserasi digunakan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari.

Cairan penyari akan menembus dinding sel dan akan masuk kedalam rongga sel yang mengandung zat aktif.

Zat aktif akan larut dikarenakan adanya perbedaan konsentrasi antara di dalam sel dan di luar sel, maka larutan yang terpekat akan didesak keluar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel.

b. Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur dan titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama sampai 3-5 kali sehingga proses ekstraksi sempurna.

c. Perkolasi

Perkolasi adalah cara penyarian yang dilakukan dengan mengalirkan cairan penyari melalui serbuk simplisia yang telah dibasahi.

Prinsip perkolasi yaitu kecuali dinyatakan lain, perkolasi dilakukan sebagai berikut: 10 bagian simplisia atau campuran simplisia dengan derajat halus yang cocok dibasahi dengan 2,5 bagian sampai 5 bagian cairan penyari, lalu dimasukkan ke dalam bejana tertutup sekurang-kurangnya selama 3 jam.

Massa dipindahkan sedikit demi sedikit ke dalam perkolator sambil tiap kali ditekan hati-hati, dituangi dengan cairan penyari secukupnya sambil cairan mulai menetes dan di atas simplisia masih terdapat selapis cairan penyari.

Lalu perkolator ditutup dan dibiarkan selama 24 jam. Setelah itu kran perkolator dibiarkan menetes dengan kecepatan 1 ml permenit (lambat).

d. Soxhletasi

Soxhletasi adalah ekstraksi yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinyu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik (Dirjen POM, 2000: 82).

3. Mekanisme kerja

Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk kedalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut dari karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang di luar sel, maka larutan yang terpekat akan terdesak keluar.

Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar dan di dalam sel (Sastroamidjojo, 1985: 65-72).

4. Tujuan ekstraksi

Tujuan ekstraksi adalah untuk menarik dan memisahkan senyawa yang mempunyai kelarutan berbeda-beda dalam berbagai pelarut komponen kimia yang terdapat dalam bahan alam baik dari tumbuhan, hewan, dan biota laut dengan menggunakan pelarut organik tertentu. Ekstraksi ini didasarkan pada perpindahan massa komponen zat padat ke dalam pelarut dimana perpindahan mulai terjadi pada lapisan antarmuka, kemudian berdifusi masuk ke dalam pelarut.

Prosesnya adalah sebagai berikut: pelarut organik akan menembus dinding sel dan akan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan terlarut sehingga terjadi perbedaan konsentrasi di dalam sel dan pelarut organik di luar sel.

Maka larutan terpekat akan berdifusi ke luar sel, dan proses ini berulang terus sampai terjadi keseimbangan antara konsentrasi zat aktif di dalam dan di luar sel (Sastroamidjojo, 1985: 65-72).

5. Ekstraksi secara maserasi

Maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari.

Maserasi digunakan untuk penyarian simplisia yang mengandung zat aktif yang mudah larut dalam cairan penyari, tidak mengandung zat yang mudah mengembang dalam cairan penyari, tidak mengandung benzoin, dan lain-lain.

Maserasi dapat dilakukan modifikasi misalnya:

- a. Digesti adalah cara maserasi dengan menggunakan pemanasan lemah, yaitu pada suhu anatar 40-50⁰C. Cara maserasi ini hanya dapat dilakukan untuk simplisia yang zat aktifnya tahan terhadap pemanasan.
- b. Maserasi dengan mesin pengadukan adalah maserasi yang dilakukan dengan menggunakan mesin pengadukan yang berputar terus-menerus, waktu proses maserasi dapat dipersingkat menjadi 6 sampai 24 jam.
- c. Remaserasi adalah penyarian dimana cairan penyari dibagi menjadi dua. Seluruh serbuk simplisia dimaserasi dengan cairan penyari pertama, dituangkan dan diperas, ampas dimaserasi lagi dengan cairan penyari yang kedua.
- d. Maserasi melingkar adalah penyarian yang digunakan dengan cairan penyari yang selalu mengalir kembali secara berkesinambungan melalui serbuk simplisia dan melarutkan zat aktifnya.
- e. Maserasi melingkar bertingkat adalah metode penyarian yang menggunakan peralatan yang hampir sama dengan maserasi melingkar, tetapi dengan jumlah bejana penampung yang disesuaikan dengan keperluan (lebih banyak) (Dirjen POM, 2000: 82).

H. Fraksinasi

Fraksinasi pada prinsipnya adalah proses penarikan senyawa pada suatu ekstrak dengan menggunakan dua macam pelarut yang tidak saling bercampur.

Pelarut yang umumnya dipakai untuk fraksinasi adalah n-heksan, etil asetat, dan metanol.

Untuk menarik lemak dan senyawa non polar digunakan n-heksan, etil asetat untuk menarik senyawa semi polar, sedangkan metanol untuk menarik senyawa-senyawa polar (Mutiasari, 2012).

Dari proses ini dapat diduga sifat kepolaran dari senyawa yang akan dipisahkan. Sebagaimana diketahui bahwa senyawa-senyawa yang bersifat non polar akan larut dalam pelarut yang non polar sedangkan senyawa-senyawa yang bersifat polar akan larut dalam pelarut yang bersifat polar juga (Mutiasari, 2012).

Vacum Liquid Chromatography atau kromatografi cair vakum adalah kromatografi kolom yang dipercepat dan bekerja pada kondisi vakum.

Prinsip yang digunakan adalah adanya perbedaan sifat fisik dan kimia dari senyawa yaitu kecenderungan dari molekul untuk melarut dalam cairan (kelarutan), menguap (keatsirian), dan melekat pada permukaan serbuk halus (adsorpsi, penyerapan) (Pelletier *et al.*, 1986 982-900).

Modifikasi kromatografi cair yang dibantu dengan menggunakan vakum dapat diaplikasikan untuk memperoleh beberapa fraksi dalam waktu yang cepat dan tidak menggunakan fase diam serta fase gerak yang terlalu banyak (Pelletier *et al.*, 1986 982-900).

Kolom kromatografi dikemas kering (biasanya dengan penjerap mutu KLT10-40 μm) dalam keadaan vakum agar diperoleh kerapatan kemasan maksimum. Vakum dihentikan, pelarut yang kepolarannya rendah dituangkan ke permukaan penjerap lalu divakumkan lagi. Kolom dihisap sampai kering dan siap dipakai.

Cuplikan dilarutkan ke dalam pelarut yang cocok, dimasukkan langsung pada bagian atas kolom atau pada lapisan penjerap dan dihisap sampai kering pada setiap pengumpulan fraksi. Oleh karena itu kromatografi vakum cair menggunakan tekanan rendah untuk meningkatkan laju aliran fase gerak (Hostettmann *et al.*, 1995).

Metode yang umum digunakan untuk memisahkan komponen-komponen senyawa yaitu metode kromatografi. Untuk tujuan kualitatif dapat digunakan kromatografi lapis tipis (KLT) sedangkan untuk pemisahan senyawa dalam jumlah besar dapat digunakan kromatografi kolom (Mutiasari, 2012).

Memiliki kekuatan melarutkan yang bagus, mudah diaplikasikan dalam kromatografi skala besar (sampai 100 g) dan cepat merupakan salah satu kelebihan dari kromatografi cair vakum (Pelletier *et al.*, 1986 982-900).

Kromatografi lapis tipis adalah metode pemisahan fitokimia. Lapisan yang memisahkan terdiri atas bahan berbutir-butir (fase diam), ditempatkan pada penyangga berupa pelat gelas, logam, atau lapisan yang cocok. Campuran yang akan dipisah berupa larutan, ditotolkan berbentuk bercak atau pita (awal), kemudian pelat dimasukkan di dalam bejana tertutup rapat yang berisi larutan pengembang yang cocok (fase gerak), pemisahan terjadi selama perambatan kapiler (pengembangan). Senyawa yang tidak berwarna selanjutnya harus ditampakkan (dideteksi) (Satroamidjojo, 1985: 30).

Fase diam yang digunakan dalam KLT adalah bahan penyerap. Penyerap yang umum adalah silika gel, aluminium oksida, selulosa, kiselgur, selulosa dan turunannya. Dua sifat yang penting dari penyerap adalah besar partikel dan homogenitasnya, karena adhesi terhadap penyokong sangat tergantung pada hal tersebut (Satroamidjojo, 1985: 30).

I. Metode Pemisahan Secara Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi adalah suatu teknik pemisahan, yang pertama kali dipakai untuk memisahkan zat warna tanaman. Meskipun demikian pembatasan untuk senyawa-senyawa yang berwarna tak lama dan hampir kebanyakan pemisahan-pemisahan secara kromatografi sekarang diperuntukkan untuk senyawa-senyawa tak berwarna, termasuk gas (Satroamidjojo, 1985: 30).

Kromatografi didefinisikan sebagai prosedur pemisahan zat terlarut oleh suatu proses migrasi diferensial dinamis dalam sistem yang terdiri dari dua fase atau lebih.

Salah satu diantaranya bergerak secara berkesinambungan dalam arah tertentu dan didalamnya zat-zat itu menunjukkan perbedaan mobilitas disebabkan adanya perbedaan dalam adsorpsi, partisi, kelarutan, tekanan uap, ukuran molekul, atau kerapatan muatan ion.

Dengan demikian masing-masing zat dapat didefinisikan atau ditetapkan dengan metode analitik (Depkes, 1995: 1002).

Pemisahan dengan kromatografi dilakukan dengan memperhatikan langsung beberapa sifat fisika dari zat yang menyusun suatu campuran atau molekul. Sifat-sifat fisika yang terlibat adalah:

- a. Kecenderungan untuk melarut dalam cairan
- b. Kecenderungan molekul untuk melekat pada permukaan serbuk halus
- c. Kecenderungan molekul untuk menguap atau berubah ke keadaan uap

Manfaat dilakukan kromatografi pada hakikatnya adalah dengan tujuan untuk mengetahui senyawa-senyawa apa yang ada (kualitatif), berapa kadarnya (kuantitatif), dan bagaimana memperoleh komponen yang murni (Gritter, 1991: 114).

Kromatografi lapis tipis adalah salah satu cara memisahkan suatu komponen berdasarkan adsorpsi dan partisi. Adsorben yang digunakan berupa bubuk halus dari silika gel yang dibuat serba rata diatas lempeng kaca.

Komponen yang dipisahkan naik mengikuti pelarutnya sesuai dengan kecepatan elusinya masing-masing terjadi pemisahan. Ukuran partikel adsorben pada lempeng kaca berbentuk rata dan homogen, sehingga rembesan dari cairan pengelusi cepat dan rata, dengan demikian komponen dapat terpisah baik.

Tetapi lazimnya untuk identifikasi menggunakan harga Rf (retention factor) yang didefinisikan sebagai berikut:

$$Rf = \frac{\text{Jarak tempuh node}}{\text{Jarak tempuh eluen}}$$

Faktor-faktor yang mempengaruhi harga Rf dalam kromatografi lapis tipis:

- a. Struktur kimia dari senyawa yang dipisahkan
- b. Sifat dari penjerap dan derajat aktivitasnya
- c. Tebal dan kerataan dari lapisan penyerap
- d. Pelarut (fase gerak) dan derajat kemurniannya
- e. Derajat kejenuhan dalam bejana pengembangan
- f. Jumlah cuplikan yang digunakan
- g. Suhu dan Keseimbangan)

Harga Rf ditentukan oleh jarak rambat senyawa dari titik awal dan jarak rambat fase gerak dari titik awal. Harga Rf ini dapat digunakan untuk identifikasi senyawa yang dianalisa (Sastroamidjojo, 1985: 36; Gritter, 1991: 114-115)

J. KLT Bioautografi

Bioautografi berasal dari kata bio = makhluk hidup, autografi = melakukan aktivitas sendiri. Menurut Djide (2008), bioautografi adalah suatu metode pendeteksian untuk menemukan suatu senyawa antimikroba yang belum teridentifikasi dengan cara melokalisir aktivitas antimikroba tersebut pada suatu kromatogram.

Metode ini memanfaatkan pengertian kromatografi lapis tipis (KLT). Pada bioautografi ini didasarkan atas efek biologis berupa antibakteri, antiprotozoa, antitumor, dan lain-lain dari substansi yang diteliti.

Ciri khas dari prosedur bioautografi adalah didasarkan atas teknik difusi agar, dimana senyawa antimikrobanya dipindahkan dari lapisan KLT ke medium.

Agar yang telah diinokulasikan dengan merata bakteri uji yang peka. Dari hasil inkubasi pada suhu dan waktu tertentu akan terlihat zona hambatan disekeliling dari spot dari KLT yang telah ditempelkan pada media agar.

Zona hambatan ditampakkan oleh aktivitas senyawa aktif yang terdapat di dalam bahan yang diperiksa terhadap pertumbuhan mikroorganisme uji.

Bioautografi dapat dipertimbangkan karena paling efisien untuk mendeteksi komponen antimikroba, sebab dapat melokalisir aktivitas meskipun dalam senyawa aktif tersebut terdapat dalam bentuk senyawa kompleks dan dapat pula diisolasi langsung dari komponen yang aktif.

KLT-Bioautografi dapat dibagi atas 3 kelompok yaitu :

1. Bioautografi langsung

Prinsip kerja dari metode ini adalah suspensi mikroorganisme uji peka dalam medium cair disemprotkan pada permukaan kromatografi lapis tipis (KLT) yang telah dihilangkan sisa-sisa eluen yang menempel pada lempeng kromatogram. Setelah itu dilakukan inkubasi pada suhu dan waktu tertentu.

2. Bioautografi kontak

Metode ini didasarkan atas difusi dari senyawa yang telah dipisahkan dengan kromatografi lapis tipis (KLT) atau kromatografi kertas.

Lempeng kromatografi tersebut ditempatkan diatas permukaan medium nutrient agar yang telah diinokulasikan dengan mikroorganisme yang sensitif terhadap senyawa antimikroba dan yang dianalisis setelah 15-30 menit, lempeng kromatografi tersebut dipindahkan diangkat dari permukaan medium.

3. Bioautografi pencelupan

Pada prakteknya metode ini dilakukan sebagai berikut yaitu bahwa lempeng kromatografi yang telah dielusi, diletakkan didalam cawan petri, sehingga permukaannya tertutup oleh medium agar yang berfungsi sebagai (*basee layer*) setelah medium agar memadat (*base layer*nya memadat).

Selanjutnya dituangi medium yang telah disuspensikan mikroba uji yang berfungsi sebagai "*seed layer*".

Kemudian diinkubasi pada suhu dan waktu yang sesuai (Djide, 2008: 321-324).

K. Tinjauan Islam Tentang Penggunaan Tumbuh-tumbuhan sebagai obat

Al-Qur'an banyak menyebutkan tentang potensi tumbuh-tumbuhan untuk dimanfaatkan oleh manusia. Sebagaimana yang telah dijelaskan dalam QS. Al-An'am/ 6: 99 :

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا
مِنْهُ خَضِرًا نُخْرِجُ مِنْهُ حَبًّا مُتَرَاكِبًا وَمِنَ النَّخْلِ مِن طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ
وَجَنَّاتٍ مِّنْ أَعْنَابٍ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ مُتَشَبِهٍ انظُرُوا
إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ إِنَّ فِي ذَٰلِكُمْ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ ﴿٩٩﴾

Terjemahnya :

Dan Dialah yang menurunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan maka Kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan itu tanaman yang menghijau. Kami keluarkan dari tanaman yang menghijau itu butir yang banyak; dan dari mayang kurma mengurai tangkai-tangkai yang menjulai, dan kebun-kebun anggur, dan (Kami keluarkan pula) zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa. Perhatikanlah buahnya di waktu pohonnya berbuah dan perhatikan pulalah) kematangannya. Sesungguhnya pada yang demikian itu ada tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang beriman"(Kementrian Agama RI, 2013: 140).

Ayat ini merupakan lanjutan bukti-bukti kemahakuasaan Allah swt. Ayat-ayat yang lalu mengarahkan manusia agar memandang sekelilingnya supaya dia dapat sampai pada kesimpulan bahwa Allah swt Maha Esa dan kehadiran hari kiamat adalah keniscayaan. Pada ayat-ayat yang lalu dipaparkan hal-hal yang terbentang di bumi, seperti pertumbuhan biji dan benih, atau yang berkaitan dengan langit, seperti matahari dan bulan serta dampak peredarannya yang menghasilkan antara lain malam

dan siang, selanjutnya dipaparkan juga tentang manusia, asal-usul dan kehadirannya di bumi (Shihab, 2002: 573-574).

Pada ayat ini mengurai kumpulan hal-hal yang disebut sebelumnya, bermula dengan menegaskan bahwa dan Dia juga bukan selain-Nya yang telah menurunkan air, akibat turunnya air itu, Allah menumbuhkan segala macam tumbuh-tumbuhan, maka kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan itu tanaman yang menghijau (Shihab, 2002: 573-574).

Untuk lebih menjelaskan kekuasaan-Nya ditegaskan lebih jauh bahwa, Kami keluarkan darinya, yakni dari tanaman yang menghijau itu, butir yang saling bertumpuk, yakni banyak, padahal sebelumnya ia hanya satu biji atau benih (Shihab, 2002: 574).

Rasulullah saw mengajarkan bahwa Allah swt adalah Zat Yang Maha Menyembuhkan sebagaimana dalam firman-Nya QS. Al-Asy-Syu'ara/ 26 : 80

وَإِذَا مَرِضْتُ فَهُوَ يَشْفِينِ

Terjemahnya :

Dan apabila aku sakit, Dialah yang menyembuhkan aku (Kementrian Agama RI, 2013 : 371).

Dalam Al-Qur'an terdapat beberapa ayat yang menerangkan tentang urusan kesehatan untuk dipelajari dan diperhatikan oleh segenap umat manusia, terutama para pengikut Al-Qur'an. Karena dengan ilmu ini, kaum muslimin akan memperoleh kesehatan bagi jasmaninya dan dengan kesehatan tubuhnya itulah mereka akan dapat melaksanakan tugas-tugas kewajibannya dalam agama. Dalam Al-Qur'an juga

terdapat ayat-ayat yang mengandung ilmu pendidikan, ilmu bintang, ilmu tumbuhan, ilmu hewan, dan lain-lain (Chalil, 2008 : 24).

Demikianlah di antara ilmu – ilmu yang terkandung di dalam Al-Qur'an, yang singkatnya dapat dikatakan bahwa Al-Qur'an itu sumber ilmu pengetahuan bagi umat manusia. Karena dalam kenyatannya, semakin tinggi penyelidikan manusia dengan ilmu pengetahuan semakin bertambah keheranan dengan kekaguman manusia terhadap Al-Qur'an itu mukjizat Nabi Muhammad saw Dengan demikian Allah swt berfirman dalam QS.Al-Asy-Syu'ara/ 26 : 7

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾

Terjemahnya:

Dan Apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik? (Kementrian Agama RI, 2013 : 371).

Ayat suci Al-Qur'an Allah menjelaskan telah penciptaan sesuatu itu dengan berpasang-pasangan yang ditafsirkan bahwa penyakit di ciptakan dan obat adalah pasangannya, sebagaimana di dalam firman Allah swt dalam QS. Yaasiin/ 36 : 36

سُبْحَنَ الَّذِي خَلَقَ الْأَزْوَاجَ كُلَّهَا مِمَّا تُنْبِتُ الْأَرْضُ وَمِنْ أَنْفُسِهِمْ وَمِمَّا لَا يَعْلَمُونَ ﴿٣٦﴾

Terjemahnya :

Maha suci Tuhan yang telah menciptakan pasangan-pasangan semuanya, baik dari apa yang ditumbuhkan oleh bumi dan dari diri mereka maupun dari apa yang tidak mereka ketahui (Kementrian Agama RI, 2009 : 442).

Dalam ilmu pengetahuan modern disebutkan bahwa Al-Qur'an memiliki beberapa tumbuhan yang dapat mencegah sampai menyembuhkan penyakit. Allah

menyuruh manusia supaya memperhatikan keragaman dan keindahan disertai seruan agar merenungkan ciptaannya yang menakjubkan.

Rasulullah saw bersabda, dalam hadits *Abu al-Darda'*:

حَدَّثَنَا مُحَمَّدُ بْنُ عَبْدِ الْوَاسِطِيِّ، حَدَّثَنَا يَزِيدُ بْنُ هَارُونَ، أَخْبَرَنَا إِسْمَاعِيلُ بْنُ عِيَّاشٍ،
عَنْ ثَعْلَبَةَ بْنِ مُسْلِمٍ، عَنْ أَبِي عِمْرَانَ الْأَنْصَارِيِّ، عَنْ أُمِّ الدَّرْدَاءِ، عَنْ أَبِي الدَّرْدَاءِ،
قَالَ: قَالَ رَسُولُ اللَّهِ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ: إِنَّ اللَّهَ أَنْزَلَ الدَّاءَ وَالِدَوَاءَ، وَجَعَلَ لِكُلِّ
دَاءٍ دَوَاءً فَتَدَاوَوْا وَلَا تَدَاوَوْا بِحَرَامٍ

Artinya :

Sesungguhnya Allah telah menurunkan penyakit dan obat, dan menjadikan bagi setiap penyakit terdapat obatnya, maka berobatlah dan jangan berobat dengan sesuatu yang haram! (H.R. Abu Daud).

Hadis tersebut menerangkan bahwa di antara resiko dari kehidupan manusia adalah penyakit, namun Allah juga tidak menurunkan penyakit, kecuali disertai dengan obat penawarnya. Hal ini juga menunjukkan bahwa di alam ini diciptakan oleh Allah swt dengan berpasang-pasangan, sehingga tinggal Allah swt sendiri dalam kemahasucian-nya di atas segala makhluk-nya.

Setiap yang diciptakan oleh-Nya diperuntukkan kepada manusia sebagai khalifah di muka bumi ini untuk dimanfaatkan sebaik-baiknya dan setiap penyakit pasti ada obatnya yang menjadi penawarnya agar penyakit itu dapat sembuh, termasuk melakukan penelitian terhadap daun belimbing wuluh yang diduga kuat memiliki khasiat yang banyak untuk menyembuhkan banyak penyakit.

Semua penyakit memiliki obatnya, manusialah yang perlu berusaha untuk mencari dan menggunakan obat-obat tersebut bagi penyembuhan penyakitnya. Yang tidak dapat diobati hanyalah kematian dan ketuaan. Kematian dan ketuaan merupakan

hal yang tidak bisa ditolak, dimajukan, dan dimundurkan, tapi berjalan sesuai ketentuan yang telah ditentukan oleh Allah swt.

Meskipun manusia berusaha untuk melakukan hal-hal yang dapat mencegah dari kematian, seperti berobat pada saat sakit, tetapi bila Allah swt telah menetapkan kematiannya maka ia akan meninggal saat itu pula.

Sebagaimana di dalam firman Allah swt dalam QS. Al-Ahqaf 46 : 15

وَوَصَّيْنَا الْإِنْسَانَ بِوَالِدَيْهِ إِحْسَانًا حَمَلَتْهُ أُمُّهُ كُرْهًا وَوَضَعَتْهُ كُرْهًا وَحَمْلُهُ وَفِصَالُهُ ثَلَاثُونَ شَهْرًا حَتَّىٰ إِذَا بَلَغَ أَشُدَّهُ وَبَلَغَ أَرْبَعِينَ سَنَةً قَالَ رَبِّ أَوْزِعْنِي أَنْ أَشْكُرَ نِعْمَتَكَ الَّتِي أَنْعَمْتَ عَلَيَّ وَعَلَىٰ وَالِدَيَّ وَأَنْ أَعْمَلَ صَالِحًا تَرْضَاهُ وَأَصْلِحْ لِي فِي ذُرِّيَّتِي إِنِّي تُبْتُ إِلَيْكَ وَإِنِّي مِنَ الْمُسْلِمِينَ

Terjemahnya:

Dan kami perintahkan kepada manusia agar berbuat baik kepada orang tuanya. Ibunya telah mengandungnya dengan susah payah, dan melahirkan dengan susah payah (pula). Masa mengandung sampai menyapihnya selama tiga puluh bulan, sehingga apabila dia (anak itu) telah dewasa dan umurnya telah mencapai empat puluh tahun, dia berdo'a, "ya tuhanku, berilah aku petunjuk agar aku dapat mensyukuri nikmatmu yang telah engkau limpahkan kepadaku dan kepada kedua orang tuaku, dan agar aku dapat berbuat kebajikan yang engkau ridai, dan berilah aku kebaikan yang akan mengalir sampai kepada anak cucuku. Sungguh, aku bertobat kepada engkau, dan sungguh aku termasuk orang yang muslim (Kementrian Agama RI, 2009 : 504).

Demikian halnya dengan ketuaan, seberapa besar pun upaya yang dilakukan oleh manusia untuk menghindarinya, tapi usia manusia akan terus bertambah, tidak dapat berkurang atau kembali, dan seiring itu pula fungsi-fungsi organ dari tubuhnya akan berkurang.

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Jenis dan Lokasi Penelitian

1. Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian kuantitatif dengan metode bersifat eksperimental laboratorium yaitu penelitian yang bertujuan untuk menjelaskan hubungan sebab-akibat (kausalitas) antara satu variabel dengan variabel lainnya dengan melakukan kontrol dan pengukuran dengan sangat cermat terhadap variabel-variabel penelitian.

2. Lokasi Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Fitokimia dan Mikrobiologi Jurusan Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.

Penelitian dilakukan di Laboratorium Fitokimia untuk melaksanakan proses pengolahan sampel belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) sampai didapatkan ekstrak dan fraksi hasil ekstrak dari belimbing wuluh. Kemudian peneliti juga menggunakan Laboratorium Mikrobiologi untuk melaksanakan sterilisasi bahan dan alat-alat yang akan digunakan, dan juga untuk melaksanakan uji aktivitas antimikroba pada sampel.

B. Pendekatan Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan oleh penulis lebih mendekati kearah penelitian kuantitatif dengan metode eksperimental. Seperti yang telah di jelaskan diatas, metode eksperimental merupakan metode penelitian yang ingin mengetahui hubungan sebab-akibat antara suatu variabel dengan variabel lainnya.

C. Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun Belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*L.) yang berasal dari desa Barombong Kec. Bontonompo Kabupaten Gowa.

D. Alat dan Bahan

1. Alat yang digunakan

Autoklaf, batang pengaduk, bejana maserasi, bejana cawan petri, botol coklat, cawan porselin, chamber, gelas erlenmeyer 250 ml, gelas ukur 250 ml, gelas ukur 50 ml, gelas ukur 10 ml, inkubator, kompor gas, lampu spiritus, Laminar Air Flower (LAF), lampu UV 254 nm dan UV 366 nm, lemari pendingin, autoklaf, mikropipet, ose bulat, oven, penangas air, pinset, pik mikropipet, pipet, rak tabung, rotary evaporator, sendok besi, sendok tanduk, seperangkat alat kromatografi cair vakum, spidol permanent, spoit 5 ml, spoit 10 ml, spoit 1 ml, timbangan analitik, tabung reaksi, dan vial.

2. Bahan yang digunakan

Bahan tanaman yang digunakan adalah daun belimbing wuluh dalam bentuk simplisia kering, biakan murni (*Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus mutans*, *Vibrio sp*, *Candida albicans*), air suling, aluminium foil, dragendorf, FeCl_3 5%, fraksi daun Belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi*L.), DMSO, H_2SO_4 10%, kapas, kertas saring, kertas timbang, KOH, lempeng silika gel F_{254} , Lieberman Bouchard, etanol 70%, etil asetat, n-butanol, pereaksi AlCl_3 , serbuk silika

gel 60 PF₂₅₄, medium Nutrient Agar (NA), medium Nutrient Broth (NB), medium Potato Dextrosa Agar (PDA).

E. Prosedur Kerja

1. Penyiapan Sampel

a. Pengambilan sampel

Sampel daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) atau daun belimbing wuluh diambil dari Kec. Bontonompo, Kab. Gowa.

b. Pengolahan Sampel

Daun diambil yang masih terlihat segar, tidak rusak dan daun kelima dari pucuk, kemudian dibersihkan dan dicuci dengan air bersih yang mengalir. Kemudian daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) yang diperoleh disortasi basah kemudian diangin-anginkan hingga kering dan dibuat serbuk sebagai simplisia.

c. Ekstraksi sampel penelitian

Simplisia Daun Belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) ditimbang sebanyak 400 g, lalu dimasukkan ke dalam toples. Dibasahi secukupnya dengan etanol. kemudian direndam dengan etanol 70% hingga seluruh sampel terendam dan didiamkan selama 2 x 24 jam sambil diaduk sesekali. Dipisahkan antara filtrat dan ampas. Sementara ampasnya dimaserasi kembali dengan menggunakan etanol selama 2 x 24 jam. Hal ini terus dilakukan hingga cairan penyari tampak bening. Setelah maserasi dilakukan dengan etanol 70%, selanjutnya ekstrak encer yang diperoleh kemudian dikumpulkan dan diuapkan cairan penyarinya dalam rotavapor pada suhu 50° C dan 60 atm sampai diperoleh ekstrak kental. Ditimbang ekstrak untuk

mengetahui % Rendamennya. Kemudian ekstrak yang diperoleh diidentifikasi komponen kimianya dengan KLT.

d. Fraksinasi ekstrak aktif dengan Kromatografi Cair Vakum

Ekstrak etanol 70% ditimbang sebanyak 3 gram dan ditambahkan silika gel sebanyak 6 gram. Dilarutkan ekstrak aktif dengan pelarut yang sesuai secukupnya, lalu ditambahkan sedikit demi sedikit silika gel sehingga ekstrak mengering seperti serbuk. Dimasukkan 20 gram silika gel dan serbuk ekstrak kedalam gelas kromatografi cair vakum (KCV) dan dimampatkan dengan pompa vakum kemudian di elusi dengan eluen yang pertama kali digunakan. Cairan pengelusi dibuat dengan gradient kepolaran yang meningkat berdasarkan profil KLT. Fraksi-fraksi yang diperoleh diuapkan kemudian dilihat profil KLT-nya. Fraksi yang memiliki kromatogram dan warna bercak yang sama digabung menjadi satu dan diuji aktivitas antimikroba dengan metode KLT-bioautografi.

e. Pemisahan senyawa secara kromatografi lapis tipis (KLT)

Fraksi dipisahkan secara KLT dengan menggunakan perbandingan eluen. Kemudian kromatogram yang dihasilkan diamati bercaknya dibawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm serta penampak bercak H_2SO_4 10%.

f. Sterilisasi Alat

Alat-alat yang diperlukan dicuci kemudian setelah itu alat-alat yang sudah dicuci dikeringkan dengan posisi terbalik di udara terbuka setelah kering dibungkus dengan kertas tahan panas. Tabung reaksi dan gelas erlenmeyer terlebih dahulu disumbat dengan kapas bersih. Alat-alat dari kaca seperti cawan petri, botol, pipet disterilkan dalam oven pada suhu 170°C selama 2 jam. Alat-alat suntik seperti spoit yang tidak tahan dalam pemanasan tinggi, disterilkan pada autoklaf pada suhu 121°C

selama 15 menit dengan tekanan 2 atm. Jarum inokulasi atau ose disterilkan dengan cara dibakar pada nyala api lampu spiritus. Pada waktu memanaskan ose, dimulai dari pangkal kawat dan setelah terlihat merah berpijar secara pelan-pelan pemanasan dilanjutkan ke ujung ose.

g. Pembuatan medium

a. Medium Glukosa Nutrien Agar (GNA) dengan komposisi :

Glukosa	10 g
Ekstrak beef	5 g
Pepton	10 g
Natrium Klorida	2,5 g
Agar	15 g
Air suling	1000 ml

Cara pembuatan :

Bahan-bahan di atas dimasukkan ke dalam gelas Erlenmeyer, kemudian dilarutkan dengan air suling sampai 800 ml, dipanaskan sampai larut kemudian dicukupkan sampai 1000 ml air suling kemudian diatur pH 7,0. Disterilkan pada autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

b. Medium Nutrient Agar (NA)

Ekstrak beef	5 g
Pepton	10 g
Natrium Klorida	2,5 g
Agar	15 g

Cara pembuatan :

Bahan-bahan di atas dimasukkan ke dalam gelas Erlenmeyer, kemudian dilarutkan dengan air suling hingga 800 ml, dipanaskan sampai larut kemudian dicukupkan dengan air suling hingga 1000 ml, kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

c. Medium Nutrient Broth (NB) dengan komposisi :

Ekstrak beef	5 g
Natrium Klorida	2,5 g
Pepton	10 g
Air suling	1000 ml

Cara pembuatan :

Semua bahan dimasukkan ke dalam gelas erlenmeyer dilarutkan dalam air suling hingga 80 ml, dipanaskan sampai larut, dicukupkan sampai 1000 ml air suling, kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

d. Medium Potato Dextrosa Agar (PDA) dengan komposisi :

Ekstrak Potato	200 g
Dekstroza	10 g
Agar	15 g
Aquadest	1000 ml

Cara pembuatan :

Semua bahan dimasukkan ke dalam gelas erlenmeyer dilarutkan dalam air suling hingga 800 ml, dipanaskan sampai larut, dicukupkan sampai 1000 ml air suling. Kemudian disterilkan didalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

h. Penyiapan Mikroba Uji

1) Peremajaan mikroba uji

Masing-masing mikroba uji yaitu *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella thypi*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis*, *Vibriosp* diambil satu ose dari biakan murni kemudian diinokulasikan pada medium miring, lalu diinkubasi pada medium NA miring, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam untuk bakteri dan untuk *Candida albicans* diinokulasikan medium PDA lalu diinkubasi pada suhu kamar selama 72 jam.

2) Pembuatan Suspensi Mikroba uji

Hasil peremajaan mikroba, masing-masing disuspensikan dengan larutan NaCl 0,9% steril kemudian diukur transmitannya menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 580 nm pada 25%T untuk bakteri dan 75%T untuk jamur, sebagai blanko digunakan larutan NaCl 0,9% steril.

i. Pengujian secara KLT-Bioutografi

Ke dalam cawan petri dituang medium NA untuk bakteri dan medium PDA untuk jamur sebanyak 10 ml dan ditambahkan suspensi mikroba uji sebanyak 0,02 ml lalu dihomogenkan. Kromatogram hasil pemisahan senyawa secara KLT kemudian diletakkan di atas permukaan medium yang memadat. Setelah 15-30 menit, lempeng (kromatogram) diangkat dan dikeluarkan. Selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C untuk bakteri dan selama 72 jam pada suhu kamar untuk jamur. Diamati daerah hambatan yang terbentuk.

j. Pengujian potensi Antimikroba

Untuk pengujian aktivitas antimikroba, digunakan fraksi yang menunjukkan aktivitas antimikroba terhadap mikroba uji *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*,

Pseudomonas aeruginosa, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus mutans*, *Vibrio sp*, dan jamur *Candida albicans*.

Uji potensi antimikroba dilakukan dengan metode lempeng atau difusi agar dengan menggunakan cakram kertas (*paper disc*). Cakram kertas (*paper disc*) direndam ke dalam larutan fraksi 1000 ppm, 750 ppm, 500 ppm dan 250 ppm, kemudian paper disc diletakkan pada permukaan medium NA untuk bakteri dan medium PDA untuk jamur yang telah diinokulasikan mikroba yang sensitif terhadap fraksi. Selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37⁰C untuk bakteri dan selama 72 jam pada suhu kamar untuk jamur. Untuk kontrol negatif digunakan larutan DMSO yang digunakan sebagai pelarut sampel. Konsentrasi dimana terbentuk area jernih pada permukaan medium agar ditetapkan sebagai kadar hambat minimum (KBM) setelah itu diinkubasi kembali selama 24 jam pada suhu 37⁰C untuk bakteri dan selama 72 jam pada suhu kamar untuk jamur dimana ketika area pada permukaan agar tetap jernih maka ditetapkan sebagai kadar bunuh minimum (KBM). Diukur luas zona hambatan.

k. Identifikasi Bercak Aktif dengan Beberapa Penampakan Bercak

Kromatogram disemprot dengan menggunakan pereaksi semprot sebagai berikut :

1) Alkaloid

Pereaksi yang digunakan yaitu Dragenddorf, jika sampel positif mengandung alkaloid, maka timbul warna jingga dengan latar belakang kuning.

2) Steroid

Pereaksi yang digunakan, yaitu Liebermann-Buchard sampel terlebih dahulu dipanaskan setelah disemprot pereaksi, jika sampel positif mengandung steroid, maka

timbul noda berfluoresensi coklat atau biru menunjukkan senyawa triterpen. Kromatogram diamati pada lampu UV 254 nm dan 366 nm.

3) Flavonoid

Pereaksi yang digunakan yaitu Aluminium Klorida dengan perlakuan dipanaskan dan diamati UV 366, sampel mengandung senyawa flavonoid ditandai adanya warna noda berfluoresensi kuning.

4) Fenol

Pereaksi yang digunakan yaitu Besi (III) Klorida, jika sampel positif mengandung senyawa fenol maka akan dihasilkan warna hijau atau biru, dan atau hitam dengan pengamatan langsung.

5) Kumarin

Pereaksi yang digunakan yaitu Kalium Hidroksida (KOH) etanolik, jika sampel positif mengandung senyawa kumarin maka akan dihasilkan warna merah terang.

6) Penampakan bercak H_2SO_4

Kromatogram disemprotkan pereaksi H_2SO_4 10 % dipanaskan pada suhu $105^{\circ}C$ selama 5 menit dan diamati. Kebanyakan senyawa organik memberikan warna kuning, coklat, dan hitam.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Hasil Ekstraksi Daun Belimbing Wuluh

Setelah dilakukan ekstraksi daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) sebanyak 400 gram dengan metode maserasi menggunakan cairan penyari etanol diperoleh ekstrak etanol kental. Maka diperoleh hasil ekstrak seperti pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil ekstraksi sampel daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.)

Sampel	Pelarut	Berat ekstrak	% rendamen
Daun belimbing wuluh 400 gram	Etanol 70%	14,6535 gram	3,6633

2. Pemisahan Senyawa Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Pemisahan senyawa ekstrak larut etanol 70% daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dengan metode KLT menggunakan perbandingan eluen etil : n-butanol (1:7). Dari hasil penotolan pada lempeng yang diamati penampakan bercaknya padalampu UV 254 dan 366, menunjukkan jumlah bercak yang timbul yaitu pada nilai Rf 0,30, 0,44 dan 0,69. Hasil pemisahan senyawa tersebut secara KLT dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil Profil KLT Ekstrak Etanol 70% Daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.)

No.	Ekstrak	UV 254 nm		UV 366 nm		Perbandingan
		Noda	Rf	Noda	Rf	
1.	Etanol 70%	1	0,30	1	0,30	Etil asetat : n-butanol
		2	0,44	2	0,44	
		3	0,69	3	0,69	

3. Hasil Fraksi Ekstrak Etanol 70% Melalui Kromatografi Cair Vakum (KCV)

Fraksinasi ekstrak etanol 70% daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) melalui kromatografi cair vakum menggunakan campuran perbandingan eluen hasil profil KLT yang telah diperoleh sebelumnya. Hasil fraksi kemudian dielusi dengan campuran eluen etil : n-butanol sehingga diperoleh 3 gabungan fraksi yang sama melalui penampakan bercak lampu UV 254 nm dan 366 nm pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil profil KLT fraksi etanol 70% daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.).

Fraksi gabungan	Fraksi	Jumlah bercak	Penampakan bercak			
			UV 254 nm		UV 366 nm	
			Rf	Warna	Rf	Warna
I	1	1	0,90	Hijau tua	0,90	Ungu tua
		2	0,85	Hijau	0,85	Biru
	2	1	0,90	Hijau tua	0,90	Ungu tua
		2	0,85	Hijau	0,85	Biru
II	3	1	0,81	Hijau	0,81	Biru
	4	1	0,81	Hijau tua	0,81	Biru
	5	1	0,81	Hijau tua	0,81	Biru
		2	0,69	Hijau	0,69	Ungu
III	6	1	0,18	Hiaju tua	0,18	Biru
		2	0,41	Hijau	0,41	Biru
		3	0,72	Hijau	0,72	Biru
		4	0,82	Hijau tua	0,82	Ungu
	7	1	0,18	Hijau	0,18	Biru
		2	0,41	Hijau tua	0,41	Biru
		3	0,72	Hijau	0,72	Biru
		4	0,82	Hijau	0,82	Ungu
	8	1	0,18	Hijau tua	0,18	Biru
		2	0,41	Hijau	0,41	Biru
		3	0,72	Hiaju tua	0,72	Biru
		4	0,82	Hijau	0,82	Ungu

Keterangan :

SA : *Staphylococcus aureus*

PA : *Pseudomonas aeruginosa*

ST : *Salmonella thypi*

BS : *Bacillus subtilis*

EC : *Echerichia coli*

SE : *Staphylococcus epidermidis*

Vsp : *Vibrio sp*

SM : *Streptococcus mutans*

CA : *Candida albicans*

+ : Menghambat Pertumbuhan Bakteri

- : Tidak Menghambat Pertumbuhan Bakteri

5. Hasil Uji Potensi Antimikroba

Pengujian konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) dapat dilihat pada tabel 5, tabel 6 dan tabel 7.

Tabel 5. Hasil uji KHM dan KBM fraksi 1 Daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap mikroba uji

Mikroba uji	Konsentrasi					Luas zona hambatan	
	1000 ppm	750 ppm	500 ppm	250 ppm	Kontrol DMSO	1000 ppm	750 ppm
SA	+	+	-	-	-	53,70 mm	41,73 mm
ST	+	+	-	-	-	69,80 mm	68,92 mm
PA	+	+	-	-	-	70,40 mm	55,80 mm
BS	-	-	-	-	-	-	-
EC	+	+	-	-	-	72,79 mm	71,31 mm
SE	+	+	-	-	-	75,86 mm	45,34 mm
SM	+	+	-	-	-	68,92 mm	62,17 mm
V _{sp}	+	+	-	-	-	76,93 mm	75,39 mm
CA	-	-	-	-	-	-	-

Keterangan :

SA : *Staphylococcus aureus*

PA : *Pseudomonas aeruginosa*

ST : *Salmonella thypi*

BS : *Bacillus subtilis*

EC : *Echerichia coli*

SE : *Staphylococcus epidermidis*

Vsp : *Vibrio sp*

SM : *Streptococcus mutans*

CA : *Candida albicans*

+ : Menghambat Pertumbuhan Bakteri

- : Tidak Menghambat Pertumbuhan Bakteri

Tabel 6. Hasil uji KHM dan KBM fraksi 2 Daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap mikroba uji

Mikroba uji	Konsentrasi					Luas zona hambatan	
	1000 ppm	750 ppm	500 ppm	250 ppm	Kontrol DMSO	1000 ppm	750 ppm
SA	+	+	-	-	-	79,60 mm	75,86 mm
ST	+	+	-	-	-	95,52 mm	75,86 mm
PA	-	-	-	-	-	-	-
BS	+	+	-	-	-	137,40 mm	136,15 mm
EC	+	+	-	-	-	82,14 mm	70,84 mm
SE	+	+	-	-	-	124,62 mm	116,27 mm
SM	+	+	-	-	-	114,36 mm	105, 63 mm
V _{sp}	+	+	-	-	-	69,80 mm	63,18 mm
CA	-	-	-	-	-	-	-

Keterangan :

SA : *Staphylococcus aureus*

PA : *Pseudomonas aeruginosa*

ST : *Salmonella thypi*

BS : *Bacillus subtilis*

EC : *Echerichia coli*

SE : *Staphylococcus epidermidis*

Vsp : *Vibrio sp*

SM : *Streptococcus mutans*

CA : *Candida albicans*

+ : Menghambat Pertumbuhan Bakteri

- : Tidak Menghambat Pertumbuhan Bakteri

Tabel 7. Hasil uji KHM dan KBM fraksi 3 Daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap mikroba uji

Mikroba uji	Konsentrasi					Luas zona hambatan	
	1000 ppm	750 ppm	500 ppm	250 ppm	Kontrol DMSO	1000 ppm	750 ppm
SA	+	+	-	-	-	183,75 mm	175,93 mm
ST	+	+	-	-	-	165,73 mm	149,50 mm
PA	+	+	-	-	-	267,53 mm	249,57 mm
BS	+	+	-	-	-	234,12 mm	170,31 mm
EC	+	+	-	-	-	160,52 mm	151,00 mm
SE	+	+	-	-	-	195,97 mm	165,73 mm
SM	+	+	-	-	-	233,87 mm	195,97 mm
V _{sp}	+	+	-	-	-	203,47 mm	186,89 mm
CA	+	+	-	-	-	141,58 mm	116,09 mm

Keterangan :

SA : *Staphylococcus aureus*

PA : *Pseudomonas aeruginosa*

ST : *Salmonella thypi*

BS : *Bacillus subtilis*

EC : *Echerichia coli*

SE : *Staphylococcus epidermidis*

Vsp : *Vibrio sp*

SM : *Streptococcus mutans*

CA : *Candida albicans*

- + : Menghambat Pertumbuhan Bakteri
- : Tidak Menghambat Pertumbuhan Bakteri

6. Hasil Identifikasi Komponen SenyawaFraksi Teraktif Menggunakan Pereaksi Identifikasi

Fraksi paling aktif kemudian diidentifikasi komponen senyawanya menggunakan pereaksi warna semprot Lieberman Buchardat, Dragendorf, Besi (III) Klorida, Aluminium Klorida, KOH Etanolik dan penampak bercak H_2SO_4 . Hasil dapat dilihat pada tabel 8.

Tabel 8. Hasil identifikasi fraksi etanol 70% daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) menggunakan beberapa pereaksi dengan cairan pengelusi

Fraksi	Pereaksi warna	Senyawa	Perlakuan	warna	Ket
III	Dragendorf	Alkaloid	Foto langsung	Jingga latar kuning	-
	Besi (III) Klorida	Fenolik	Foto langsung	Hijau/biru/hitam	+
	Aluminium klorida	Flavanoid	Panaskan dan foto UV 366	Noda berfluoresensi kuning	+
	Lieberman buchard	Steroid Triterpen	Panaskan dan foto UV 366	Noda hijau kebiruan Noda berfluoresensi Merah	+
	KOH etanolik	Kumarin	Foto UV 366	Merah terang	-
	H_2SO_4		Dipanaskan	Kuning/coklat/hitam	

Keterangan :

- + : Mengandung
- : Tidak Mengandung

B. Pembahasan

Telah dilakukan penelitian dari fraksi etanol 70% daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). Daun belimbing wuluh merupakan satu jenis tanaman tradisional yang dapat digunakan untuk mengatasi diabetes, rematik, gondongan, sariawan, sakit gigi, gusi berdarah, jerawat, diare dan tekanan darah tinggi. Bagian tumbuhan yang digunakan adalah daunnya dimana kandungan kimia yang terdapat di dalam daunnya adalah tanin, sulfur, steroid, asam format, dan flavonoid.

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dimana waktu pengambilan sampel dilakukan pada pagi hari sekitar pukul 10.00, dan juga tanaman yang sudah mulai berbunga karena saat itulah tanaman terjadi fotosintesis maksimum. Setelah daun dikeringkan di tempat yang tidak terkena sinar matahari secara langsung. Daun yang telah kering kemudian dibuat serbuk untuk memperluas permukaan, sehingga pada saat ekstraksi, kontak antara pelarut dengan sampel lebih efektif dan senyawa dapat terekstrak dengan optimal. Pengeringan dilakukan agar reaksi enzimatik tidak berjalan dan mencegah pertumbuhan mikroba pada simplisia daun belimbing wuluh. Setelah didapatkan serbuk simplisia daun belimbing wuluh, kemudian dilakukan ekstraksi dengan metode maserasi. Sampel yang telah kering lalu dimaserasi dengan menggunakan pelarut etanol 70% dimana etanol 70% bersifat semipolar sehingga dapat menarik komponen yang bersifat polar dan nonpolar. Selain itu, etanol 70% dapat menarik zat aktif yang terkandung di dalamnya sebanyak-banyaknya. Pada penelitian sebelumnya juga telah dilakukan proses maserasi daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dengan menggunakan pelarut etanol 70%.

Metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini adalah metode maserasi. Dimana maserasi dilakukan dengan merendam serbuk simplisia daun belimbing wuluh dalam pelarut hingga seluruh serbuk simplisia terendam seluruhnya. Larutnya kandungan kimia simplisia saat proses maserasi, umumnya akan terjadi apabila pelarut menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel. Di dalam rongga sel inilah terdapat senyawa aktif yang dapat larut di dalam pelarut. Perbedaan konsentrasi antara larutan senyawa aktif di dalam sel dengan di luar sel menyebabkan larutan dengan konsentrasi tinggi didesak ke luar ke konsentrasi rendah. Apabila telah terjadi keseimbangan konsentrasi di dalam dan di luar sel, maka proses ekstraksi akan berhenti. Oleh karena itu, pada proses maserasi disertai pula dengan pengadukan agar terjadi perputaran pelarut sehingga akan merubah profil konsentrasinya dan proses ekstraksi akan terjadi secara optimal.

Metode maserasi tidak menggunakan pemanasan, sehingga pengaruh negatif akibat pemanasan terhadap senyawa termolabil yang terdapat dalam daun belimbing wuluh dapat dihindari. Proses maserasi dilakukan menggunakan wadah terbuat dari kaca untuk menghindari terjadinya reaksi kimia antara pelarut maupun senyawa kimia yang tersari dengan wadahnya, karena sifat kaca yang lebih stabil (tidak mudah bereaksi) dibandingkan plastik maupun logam. Selama proses maserasi, wadah selalu dalam keadaan tertutup untuk menghindari kemungkinan terjadinya proses oksidasi oleh udara luar, juga dilakukan di dalam ruangan tertutup untuk menghindari pengaruh cahaya (sinar matahari) terhadap stabilitas senyawa-senyawa yang akan diambil.

Hasil maserasi (maserat) kemudian disaring dan dilakukan pemekatan. Pemekatan berarti peningkatan jumlah *partial solute* (senyawa terlarut) hingga

terbentuk ekstrak yang pekat dan kental, sehingga tidak terdapat lagi pelarut dalam ekstrak. Pemekatan dilakukan dengan bantuan *rotary evaporator*. *Rotary evaporator* digunakan agar proses pemekatan menjadi lebih cepat serta pelarut yang digunakan dapat diperoleh kembali sehingga lebih efisien. Ekstrak yang diperoleh kemudian disimpan dalam eksikator untuk menghindari kerusakan senyawa kimia dalam ekstrak. Hasil ekstraksi berupa ekstrak kental berwarna hijau tua.

Hasil maserasi didapatkan ekstrak etanol 70%. Pada penelitian sebelumnya juga menyebutkan bahwa ekstrak etanol 70% dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Ekstrak etanol 70% ini kemudian dicari profil KLT dengan cara menotol di lempeng silika kemudian dielusi dengan pelarut etil asetat dan n-butanol. Karena eluen etil asetat : n-butanol yang memberikan penampakan noda yang baik pemisahannya pada kromatogram dibandingkan dengan menggunakan eluen yang lain

Ekstrak kemudian difraksinasi menggunakan metode kromatografi cair vakum (KCV). Tahap ini dilakukan untuk menghasilkan pemisahan senyawa yang lebih sederhana dengan bantuan alat vakum. Pemilihan metode ini karena prosesnya cepat dan mudah. Sebelum difraksinasi, dilakukan preparasi alat dan bahan. Kromatografi cair vakum menggunakan silika gel 60 (63-200 μm). Kolom kromatografi dikemas dalam keadaan kering dan dalam keadaan vakum agar diperoleh kerapatan maksimum. Perbandingan eluen pelarut kemudian dituangkan ke permukaan penjerap, dihisap sampai kering pada setiap pengumpulan fraksinya. Eluen pelarut dibuat dengan perbandingan yang berbeda-beda, dimulai dari pelarut yang kepolarannya rendah hingga pelarut yang lebih polar. Dari hasil fraksinasi, diperoleh 8 fraksi yang kemudian di KLT dengan fase gerak etil asetat : n-butanol 1:7. Karena

eluen etil asetat : n-butanol yang memberikan penampakan noda yang baik pemisahannya pada kromatogram. Kromatogram fraksi yang memiliki warna bercak dan nilai Rf yang sama digabungkan sehingga diperoleh 3 gabungan fraksi.

Pengujian dilakukan terhadap mikroba *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus mutans*, *Vibrio sp*, *Candida albicans*. Adapun pemilihan mikroba uji tersebut karena sifat-sifatnya yang patogenik. *Staphylococcus aureus* bersifat patogenik penyebab infeksi kulit, borok, dan keracunan makanan sedangkan *Streptococcus mutans* dapat menyebabkan karies pada gigi. *Escherichia coli* dan *Salmonella thypi* bersifat patogenik penyebab utama diare kronik, tifoid dan infeksi saluran kemih. *Bacillus subtilis* bersifat patogenik penyebab bisul dan keracunan pada makanan. *Pseudomonas aeruginosa* yang bersifat invasif dan toksigenik penyebab infeksi kulit dan mata. *Vibrio sp* merupakan bakteri penghasil enterotoksin penyebab penyakit kolera. *Staphylococcus epidermidis* dapat menyebabkan infeksi pada kulit, gatal dan jerawat. *Candida albicans* menyebabkan penyakit candidiasis.

Medium yang digunakan adalah medium Nutrien Agar (NA) untuk menumbuhkan biakan bakteri sedangkan Nutrien Broth (NB) merupakan medium untuk stok bakteri dan medium Potato Dextrosa Agar (PDA) merupakan medium untuk menumbuhkan jamur.

Tiga gabungan fraksi yang diperoleh pada saat fraksinasi kemudian dilakukan pengujian KLT-Bioautografi dimana berfungsi untuk mengetahui komponen kimia apa yang memberikan aktivitas antimikroba. Metode yang digunakan dalam KLT-Bioautografi adalah metode kontak yaitu dengan cara menempelkan lempeng KLT

pada medium yang telah disuspensikan dengan mikroba uji selama 15-30 menit untuk memberikan waktu sampel untuk bekerja.

Dasar pemilihan ini untuk memudahkan dalam pengamatan identifikasi komponen kimia aktif, relatif aman bagi peneliti dan juga dapat memperkecil kesalahan yang mungkin terjadi dalam penelitian.

Hasil KLT-Bioautografi menunjukkan bahwa fraksi gabungan 3 daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dapat menghambat semua mikroba uji *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus mutans*, *Vibrio sp*, *Candida albicans*. Sedangkan pada fraksi gabungan 1 dan 2 tidak dapat menghambat semua mikroba uji. Bercak yang memberikan aktivitas antimikroba pada fraksi gabungan 3 daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terdapat pada nilai Rf 0,48, 0,57 dan 0,64.

Tiga gabungan fraksi yang diperoleh pada saat fraksinasi kemudian dilakukan pengujian KHM dimana diperoleh pada ketiga gabungan fraksi daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) menunjukkan adanya area jernih pada medium agar sehingga dapat dikatakan bahwa terjadi penghambatan pada mikroba *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus mutans*, *Vibrio sp*, *Candida albicans*.

Kemudian dari hasil uji KHM yang dilakukan, dilanjutkan pada uji KBM sebagai uji penegasan untuk memastikan penghambatan pada uji KHM. Dan dari hasil pengujian dilakukan diperoleh bahwa diantara ketiga fraksi tersebut didapatkan hasil bahwa fraksi aktif adalah fraksi gabungan 3 pada 1000 ppm dan 750 ppm

memiliki kemampuan hambat lebih besar terhadap mikroba dibandingkan dengan fraksi gabungan 1 dan 2. Hal ini dapat dilihat dari luasnya zona bening yang terbentuk, dimana fraksi gabungan 1 dan 2 memiliki kemampuan hambat lebih kecil yang ditandai terbentuknya zona bening yang lebih kecil.

Setelah dilakukan pengujian potensi antimikroba didapatkan fraksi aktif adalah fraksi gabungan 3 sehingga dilakukan identifikasi komponen senyawa menggunakan pereaksiwarna semprot Lieberman Buchard untuk identifikasi steroid, Dragendorf untuk identifikasi alkaloid, Besi (III) Klorida untuk identifikasi fenol, Aluminium Klorida untuk identifikasi flavanoid, Kalium Hidroksida (KOH) etanolik untuk identifikasi kumarin dan penampak bercak H_2SO_4 untuk memperjelas bercak yang tampak. Fraksi aktif memberikan hasil negatif terhadap preaksi Dragendorf dengan tidak adanya noda berwarna jingga dengan latar kuning sedangkan pereaksi Liebermann-Burchard memberikan hasil positif dengan adanya noda berwarna hijau kebiruan menunjukkan adanya komponen kimia golongan steroid. Fraksi aktif menunjukkan hasil positif terhadap pereaksi $FeCl_3$ 5% dengan adanya noda berwarna hitam menunjukkan adanya komponen kimia golongan fenol dan memberikan hasil positif terhadap pereaksi $AlCl_3$ dengan adanya noda berfluoresensi kuning yang menunjukkan adanya senyawa golongan flavonoid. Fraksi aktif menunjukkan hasil negatif terhadap pereaksi Kalium Hidroksida (KOH) etanolik dengan tidak adanya noda berwarna merah terang.

Golongan senyawa flavonoid ini diduga menjadi salah satu komponen yang bertanggung jawab menghambat pertumbuhan mikroba uji. Dimana mekanisme kerja flavonoid sebagai antimikroba dengan cara membentuk senyawa kompleks terhadap

protein ekstraseluler yang mengganggu keutuhan membran sel bakteri dan merusak membran sel tanpa dapat diperbaiki lagi.

Senyawa fenol merupakan senyawa yang paling banyak ditemukan pada tumbuhan, memiliki cincin aromatik dengan satu atau lebih gugus hidroksi (OH-) dan biasanya dikelompokkan berdasarkan jumlah atom karbon pada kerangka penyusunnya. Mekanisme komponen antibakteri fenolik umumnya akan berinteraksi dengan sel bakteri melalui proses absorpsi yang melibatkan ikatan hidrogen. Pada kadar rendah terbentuk kompleks protein fenol dengan ikatan yang lemah dan segera mengalami peruraian diikuti penetrasi fenol kedalam sel dan menyebabkan denaturasi protein sehingga akan mengganggu pembentukan dinding sel bakteri. Pada kadar tinggi, fenol menyebabkan koagulasi protein sel dan membran sitoplasma mengalami lisis.

Mekanisme senyawa steroid sebagai antibakteri berhubungan dengan membran lipid dan sensitivitas terhadap komponen steroid yang menyebabkan kebocoran pada liposom. Steroid dapat berinteraksi dengan membran fosfolipid sel yang bersifat permeabel terhadap senyawa-senyawa lipofilik sehingga menyebabkan integritas membran menurun serta morfologi membran sel berubah yang menyebabkan sel rapuh dan lisis.

Pada penelitian sebelumnya hanya sampai pada tahap ekstrak dimana hasilnya dapat menghambat pertumbuhan mikroba sedangkan pada selanjutnya dilakukan sampai tahap fraksi dimana juga dilakukan tahap yang lebih lanjut yaitu uji identifikasi sehingga diketahui senyawa yang terkandung di dalamnya yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba.

BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa :

1. Fraksi etanol 70% daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) memberikan daya hambat yang baik terhadap pertumbuhan mikroba *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus mutans*, *Vibrio sp*, *Candida albicans*.
2. Komponen kimia aktif yang memiliki aktivitas antimikroba pada fraksi etanol 70% daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) diduga adalah senyawa flavonoid, fenol dan steroid.
3. Semua yang Allah swt ciptakan di bumi ini tidaklah sia-sia termasuk daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dimana dapat digunakan sebagai antimikroba.

B. Saran

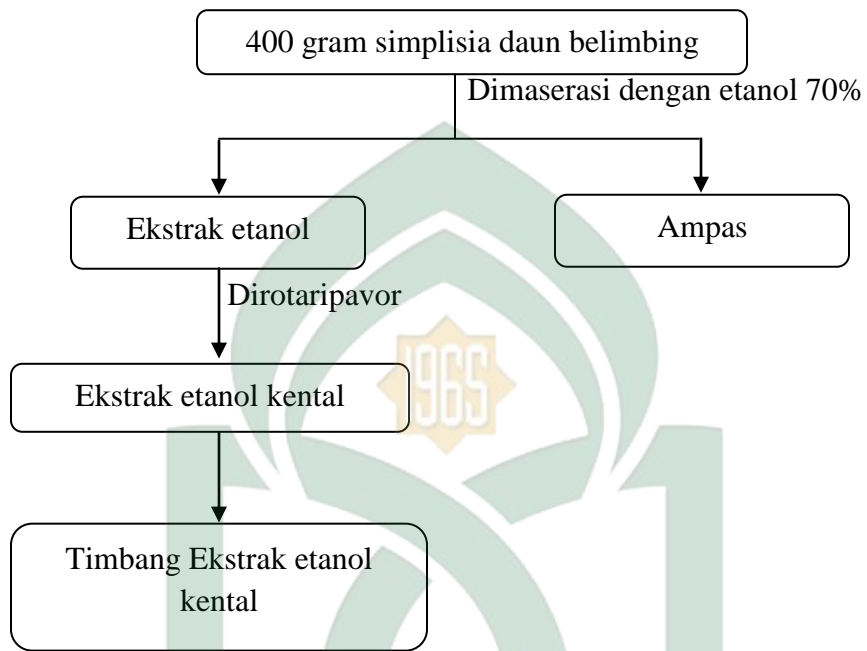
1. Sebaiknya manusia selalu bersyukur atas nikmat yang Allah swt berikan termasuk daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) karena memiliki manfaat sebagai antimikroba dan manusia juga harus lebih memperhatikan ciptaan Allah swt termasuk daun belimbing wuluh yang kemungkinan memiliki manfaat lain selain sebagai antimikroba.
2. Sebaiknya dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengisolasi senyawa antimikroba pada sampel daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) sehingga dapat diperoleh senyawa tunggal yang berefek sebagai antimikroba.

KEPUSTAKAAN

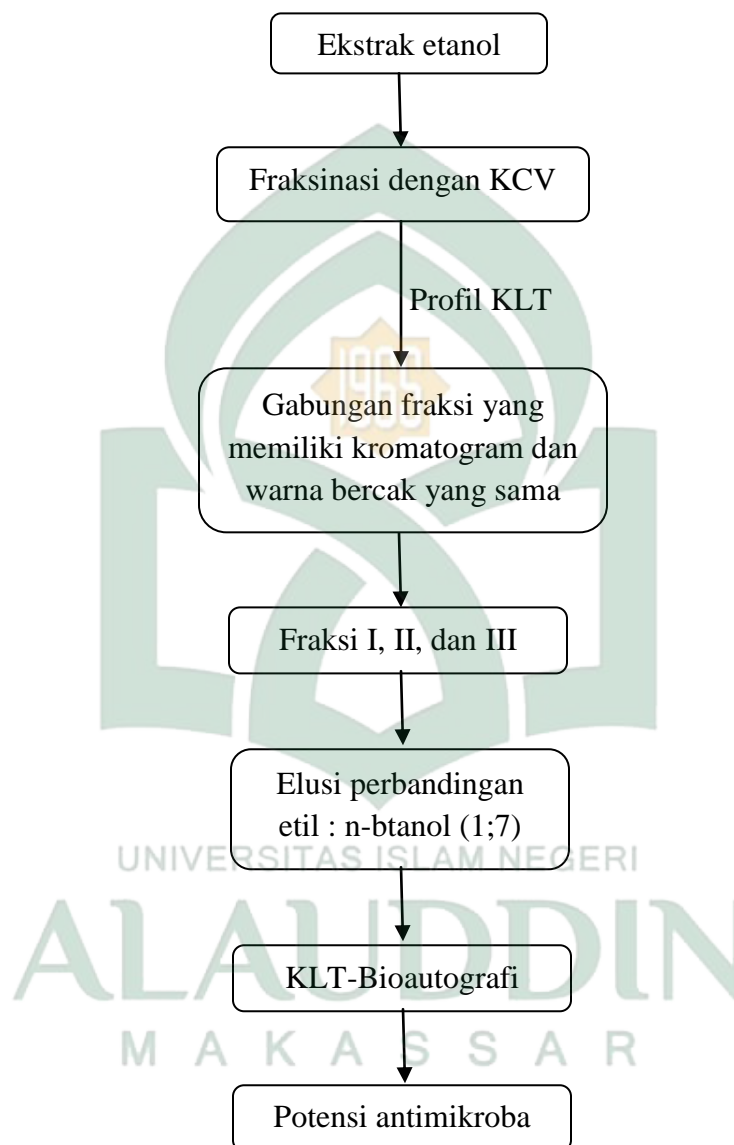
- Al-Sijista>niy, Sulaiman>n bin al-Asy‘ab bin Ish}a>q bin Basyi>r bin Syadda>d bin ‘Amru> al-Asadiy Sunan Abi> Da>wu>d, Juz VI (Cet. Bairut-S}aidan ; Al-Maktabah al-‘As}riyah, t.th)
- A’yunin, Qurrotu. 2008. *Uji Efektivitas Ekstrak Kasar Senyawa Antibakteri Pada Buah Belimbing Wuluh (Averrhoa bilimbi L.) Dengan Variasi Pelarut*. Skripsi. Malang. Universitas Islam Negeri (UIN) Malang
- Arief, Prahasta. 2009. *Belimbing*. Bandung: CV Pustaka Grafika
- Chalil, Achjar. 2008. *Pembelajaran Berbasis Fitrah*. Jakarta: Balai Pustaka
- Dirjen POM. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Cetakan Pertama. Jakarta: Departemen Kesehatan RI
- Dirjen POM. 1995. *Farmakope Indonesia Edisi IV*. Jakarta: Depkes RI
- Djide, Natsir, M.N and Sartini Kadir. 2008. *Dasar – dasar Mikrobiologi Farmasi*. Makassar: Lembaga Penerbitan Universitas Hasanuddin
- Garrity. G. M., Bell. J. A. and Lilburn, T.G. 2004. *Taconomic Outlineof The Prokaryotex bergey’s Manual of Systematic Bacteriolog. 2th Edition*. United States of America, Springer, New York Berlin Hendelberg
- Gritter, R.J, Schwerting, A.E., 1991. *Pengantar Kromatografi, Edisi Kedua, Terjemahan Kosasih Panwawita*, Bandung: Penerbit ITB
- Hostettmann, K., M. Hostettmann and A. Marston. 1995. *Cara Kromatografi Preparatif Penggunaan pada Isolasi Senyawa Alam diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata*. Bandung: Penerbit ITB
- Ismawan, Bambang, 2010. *Herbal Indonesia Berkhasiat: Bukti Ilmiah dan Cara Racik*. PT. Trubus Swadaya; Depok
- Jawetz, E., J. L, Melnick dan E. A. Adelberg. 2005. *Mikrobiologi untuk Profesi Kesehatan (Review Of Medical Mikrobiology) Diterjemahkan Oleh H. tomang* . Jakarta: Penerbit EGC
- Kementrian Agama. 2013. *Mushaf Al-Burhan edisi Wanita Tajwid*. Bandung: CV. Media Fitrah Rabbai.

- Kementrian Agama. 1989. *Al-Qur'an dan terjemahannya*. Bandung: Gema Risalah Pres
- Khairul, Masithah. 2010. *Ekstraksi dan Pengujian Aktivitas Antibakteri Senyawa Tanin Pada Daun Belimbing Wuluh (Averrhoa bilimbi L.)*. Skripsi. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim
- Mutiasari, IR. 2012. *Identifikasi golongan senyawa kimia fraksi aktif*; Journal. Jakarta: FMIPA-UI
- Pelczar, Michael J and Chan. E.C.S. 2008. *Dasar-Dasar Mikrobiologi. Terjemahan oleh Hadioetomo, Ratna sari dkk*. Jakarta: Universitas Indonesia
- Pelletier, S.W, H.P. Chokshi, and H.K. Desao. 1986. *Separation of Diterpenoid Alkaloid Mixture Using Vacuum Liquid Chromatography*. *J. Nat. Prod*
- Pratiwi, Sylvia. T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Fakultas Farmasi Gadjah Mada; Yogyakarta
- Radji, M. 2011. *Mikrobiologi*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC
- Sastrohamidjojo, H. 1985. *Kromatografi*. Yogyakarta: Liberty
- Shihab, M. Quraish. 2002. *Tafsir Al Mishbah : pesan, kesan dan keserasian Al-Qur'an* Vol. 3. Jakarta: Lentera Hati
- Simatupang, Maria Magdalena. 2009. *Candida Albicans*. Universitas Sumatera Utara
- Steenis, dkk. 2006. *Flora*. Jakarta: PT Pradnya Paramita

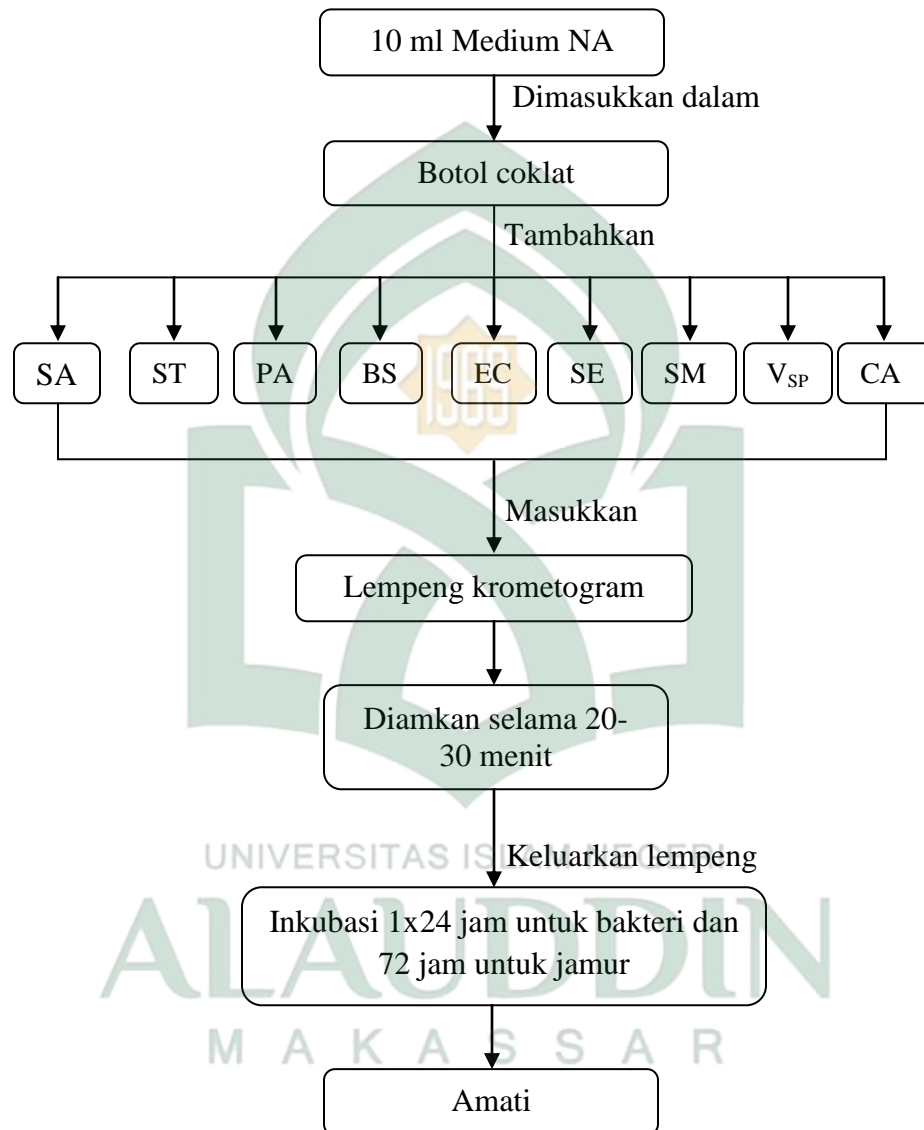
Lampiran 1. Skema kerja ekstraksi daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.)



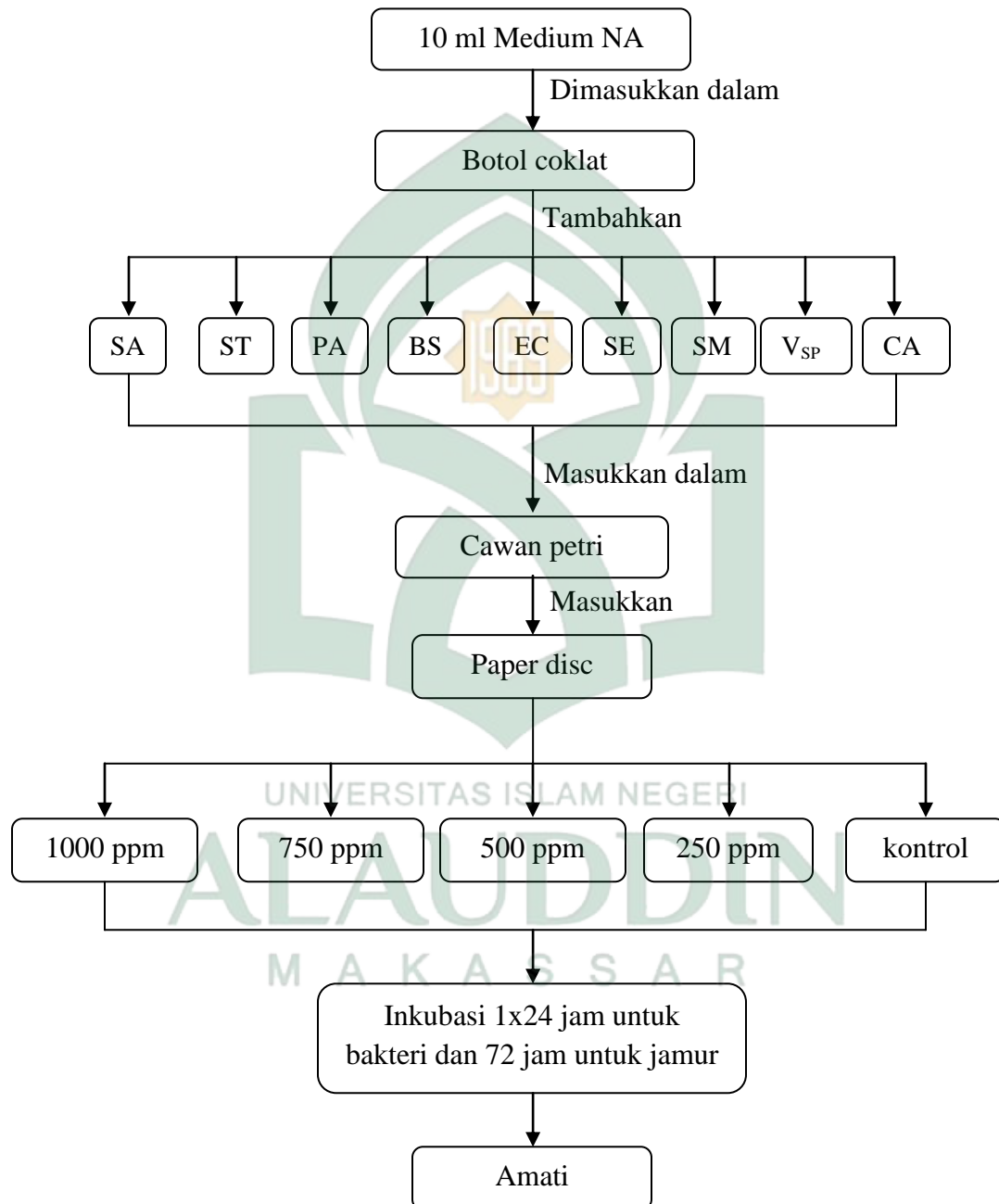
Lampiran 2. Skema kerja fraksinasi sampel daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.)



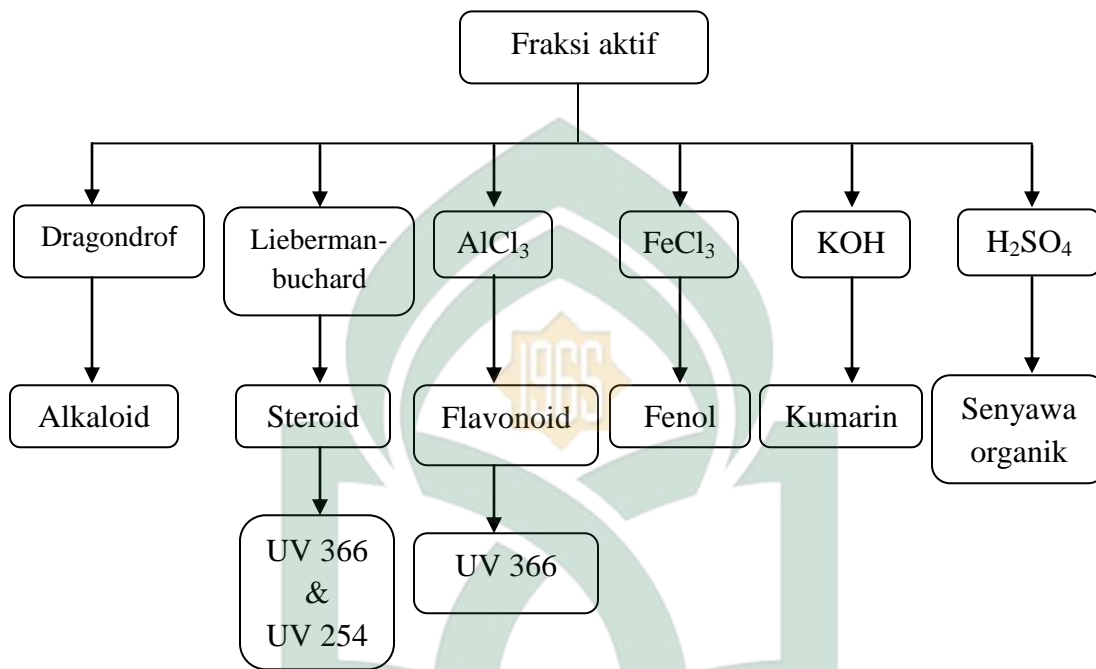
Lampiran 3. Skema kerja KLT-Bioautografi fraksi etanol daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.)



Lampiran 4. Skema kerja Uji potensi antimikroba fraksi etanol daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.)



Lampiran 5. Skema kerja Identifikasi senyawa kimia fraksi etanol daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.)



Lampiran 6. Gambar tanaman belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.)



A (Tanaman belimbing wuluh)



B (Daun belimbing wuluh)



C (Buah dan Bunga belimbing wuluh)

Lampiran 7. Gambar preparasi sampel

Lampiran 8. Gambar proses maserasi



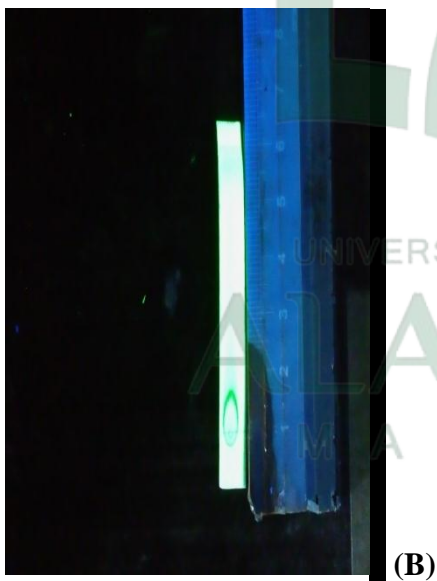
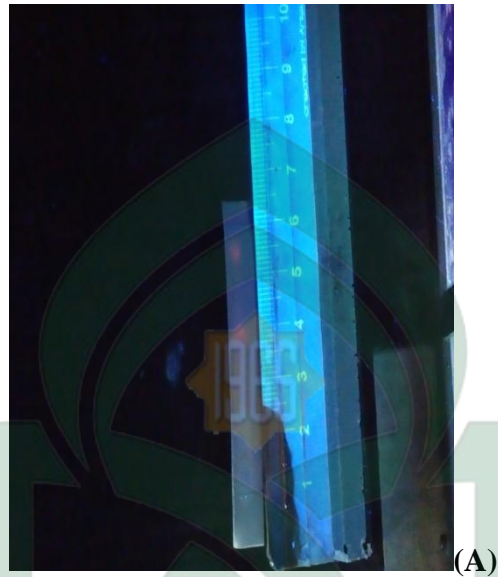
Lampiran 9. Gambar proses evaporasi



Lampiran 10. Gambar proses fraksinasi dengan KCV



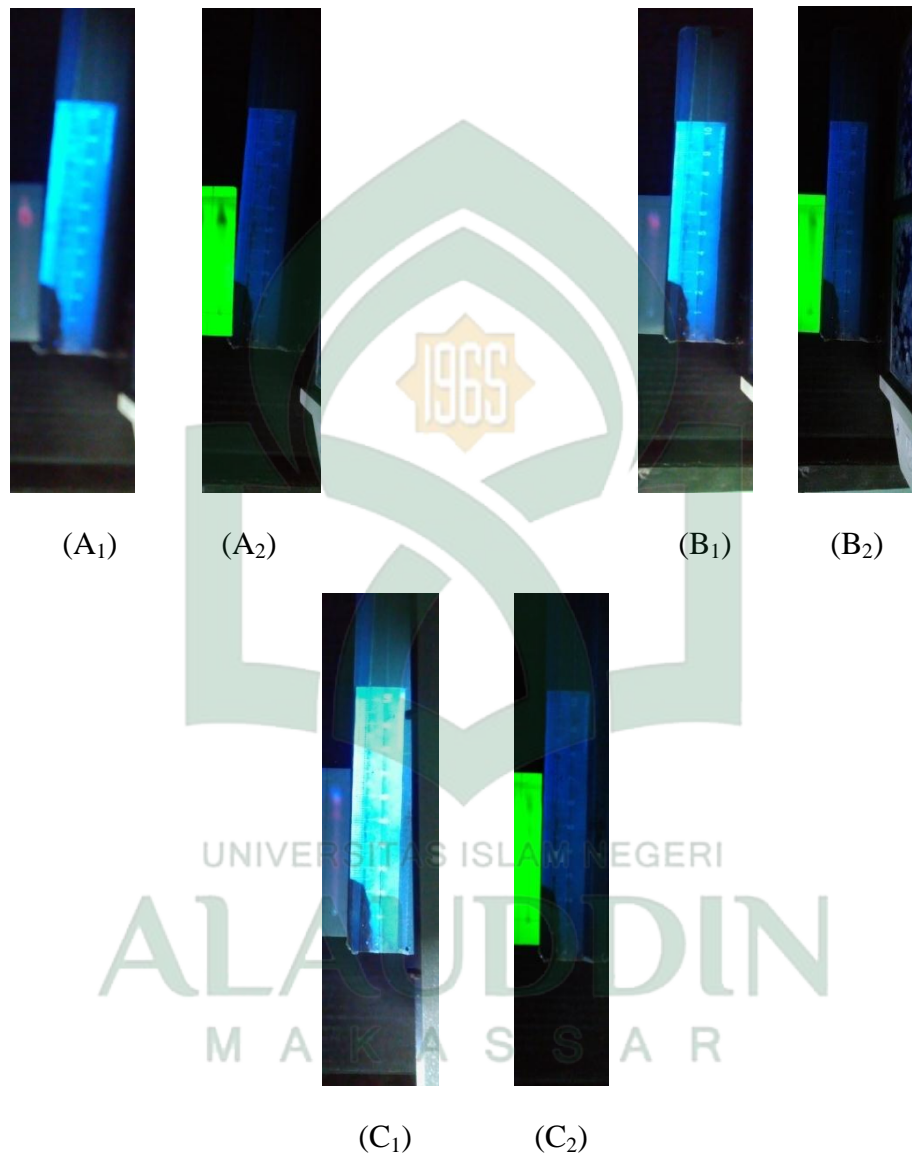
Lampiran 11. Hasil identifikasi profil KLT ekstrak etanol daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.)



Keterangan:

- A : Penampakan Noda Pada UV 254
- B : Penampakan Noda Pada UV 366
- C : Penampakan Noda Setelah Disemprot H_2SO_4 10%

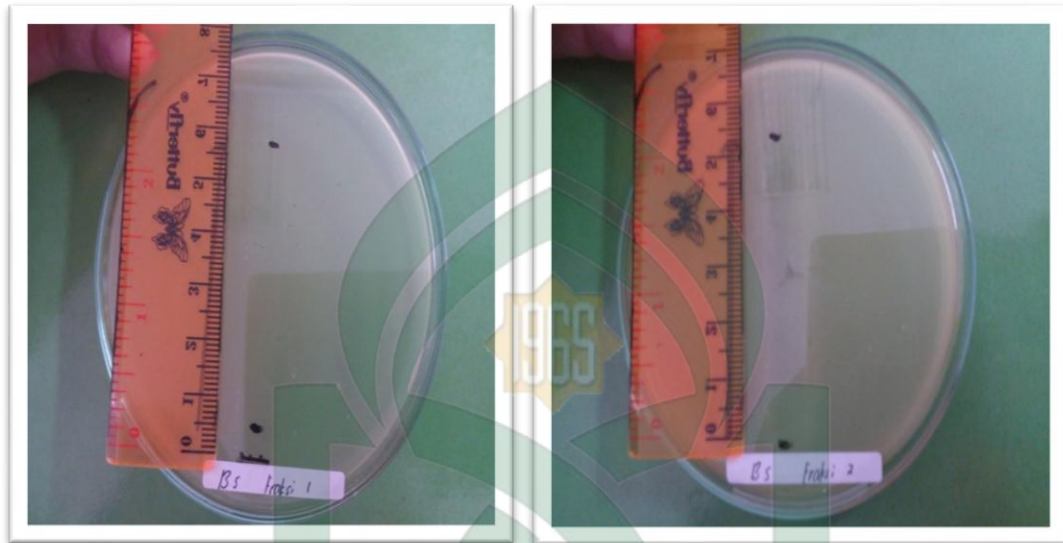
Lampiran 11. Hasil identifikasi profil KLT fraksi gabungan daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.)



Keterangan:

- A₁ : Penampakan Noda Pada UV 366 Fraksi Gabungan 1
- 2 : Penampakan Noda Pada UV 254 Fraksi Gabungan 1
- B₁ : Penampakan Noda Pada UV 366 Fraksi Gabungan 2
- 2 : Penampakan Noda Pada UV 254 Fraksi Gabungan 2
- C₁ : Penampakan Noda Pada UV 366 Fraksi Gabungan 3
- 2 : Penampakan Noda Pada UV 254 Fraksi Gabungan 3

Lampiran 12. Gambar hasil uji KLT-Bioautografi fraksi gabungan daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.)



***Bacillus subtilis* fraksi 1**

***Bacillus subtilis* fraksi 2**



***Bacillus subtilis* fraksi 3**



Escherichia coli fraksi 1



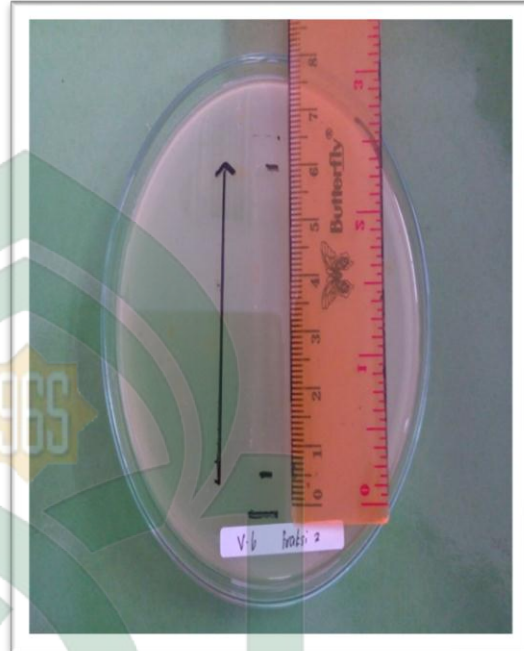
Escherichia coli fraksi 2



Escherichia coli fraksi 3



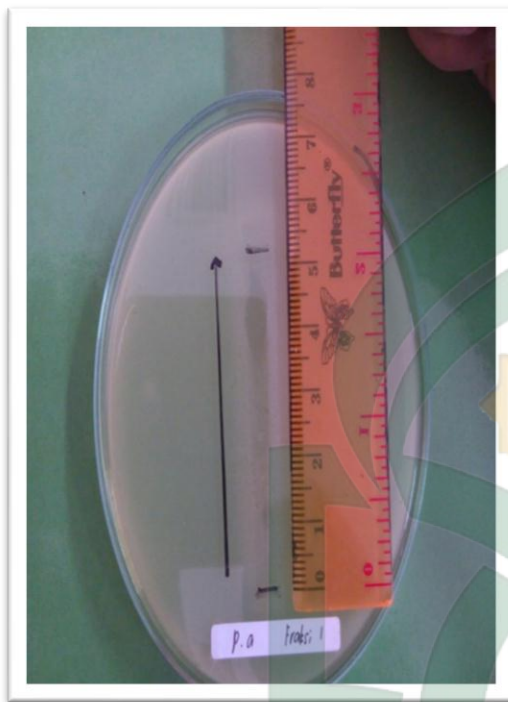
Vibrio sp fraksi 1



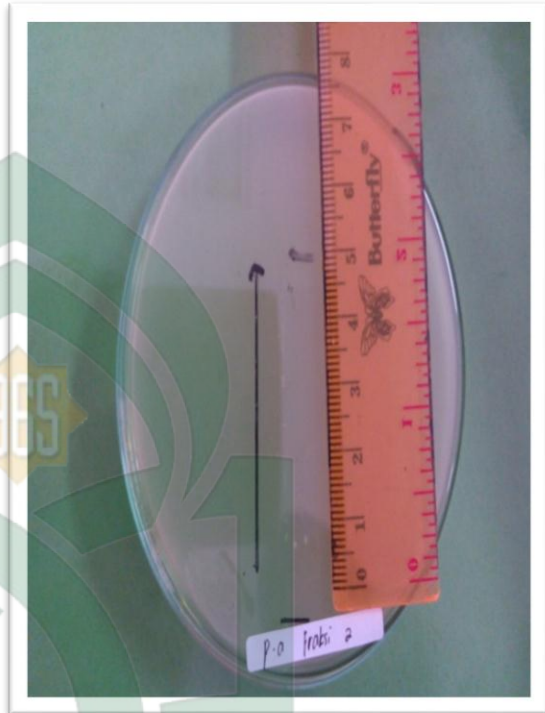
Vibrio sp fraksi 2



Vibrio sp fraksi 3



Pseudomonas aeruginosa fraksi 1



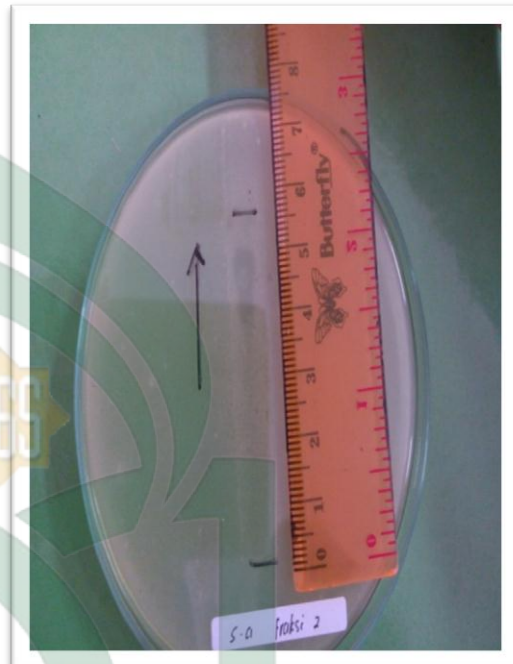
Pseudomonas aeruginosa fraksi 2



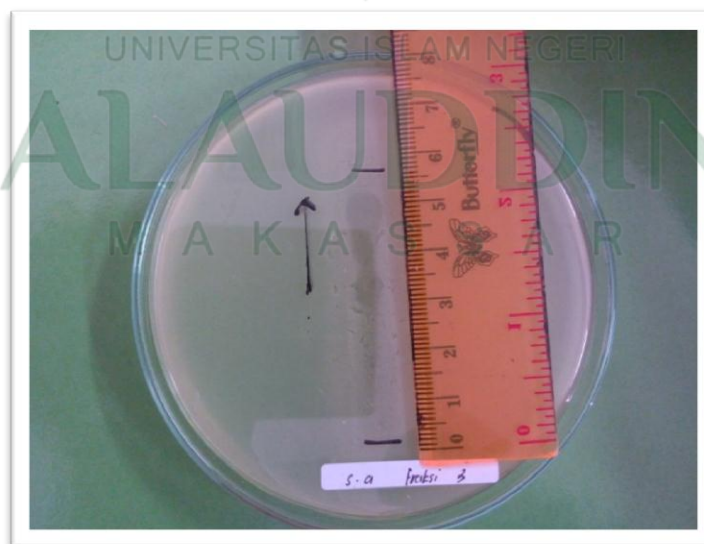
Pseudomonas aeruginosa fraksi 3



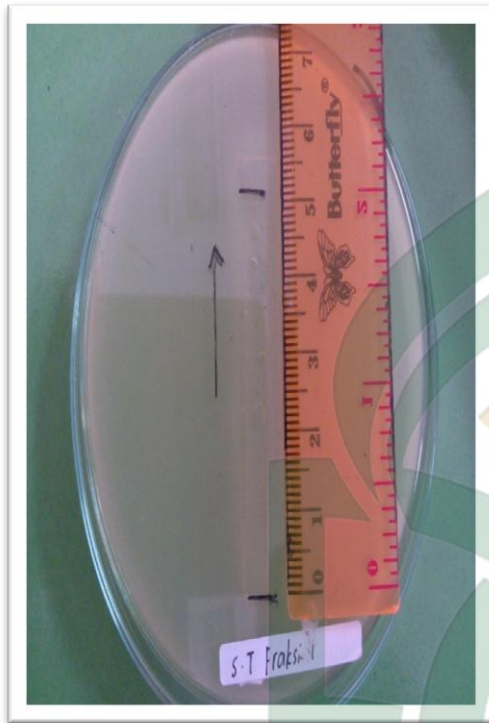
Staphylococcus aureus fraksi 1



Staphylococcus aureus fraksi 2



Staphylococcus aureus fraksi 3



Salmonella thypi fraksi 1



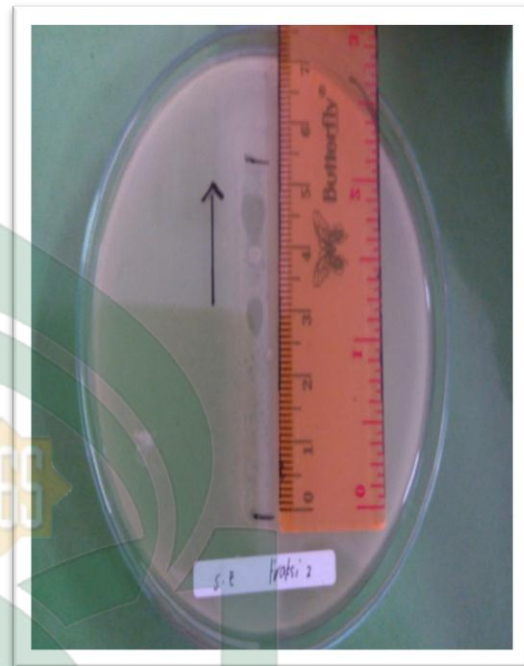
Salmonella thypi fraksi 2



Salmonella thypi fraksi 3



Staphylococcus epidermidis fraksi 1



Staphylococcus epidermidis fraksi 2



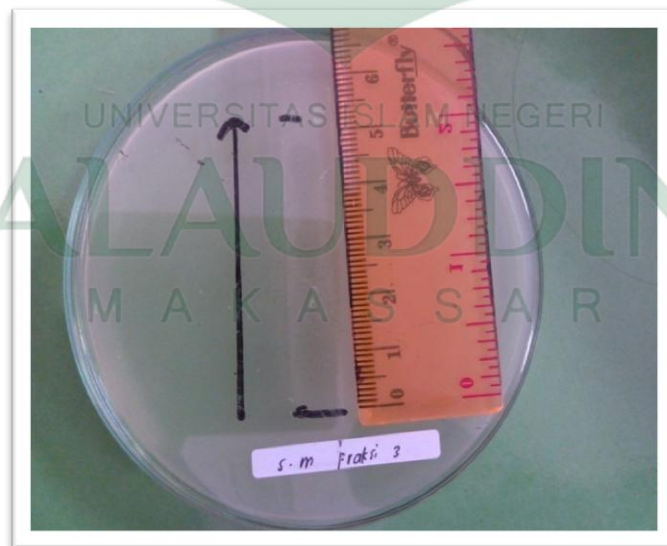
Staphylococcus epidermidis fraksi 3



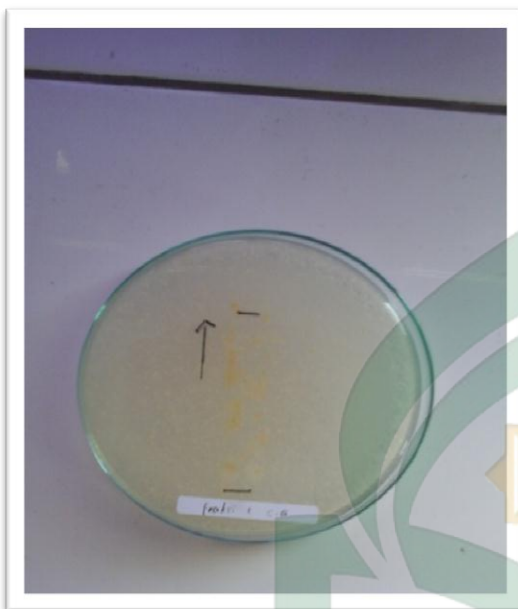
Streptococcus mutans fraksi 1



Streptococcus mutans fraksi 2



Streptococcus mutans fraksi 3



Candida albicans fraksi 1



Candida albicans fraksi 2



Candida albicans fraksi 3

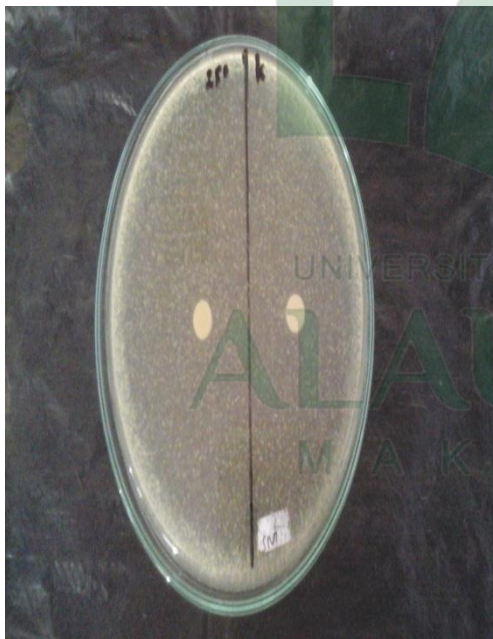
Lampiran 13. Gambar hasil uji potensi antimikroba fraksi gabungan daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.)



(SE)



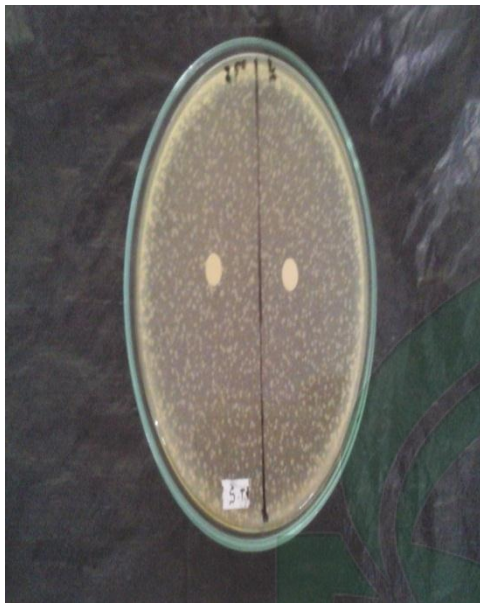
(SE)



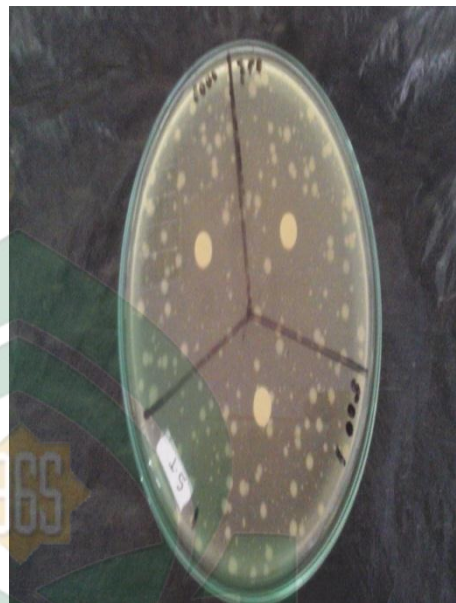
(SM)



(SM)



(ST)



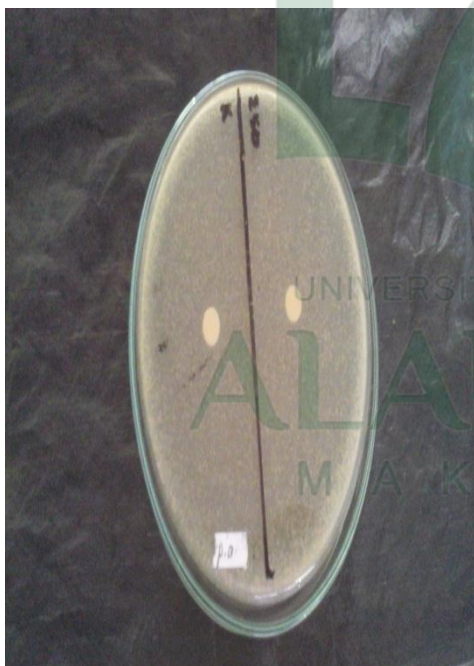
(ST)



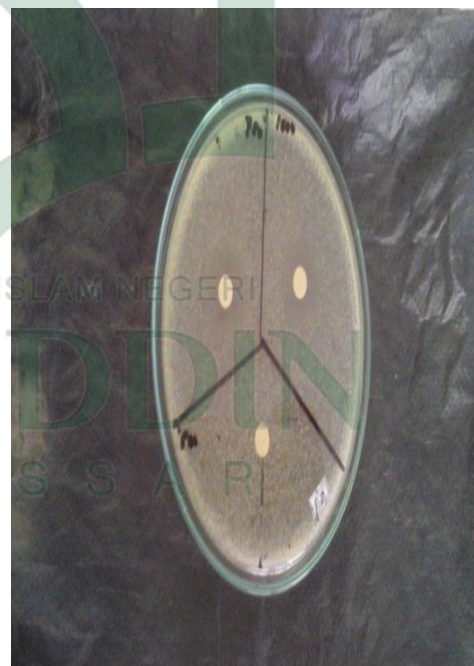
(SA)



(SA)

(V_{SP})(V_{SP})

(PA)



(PA)



(EC)



(EC)



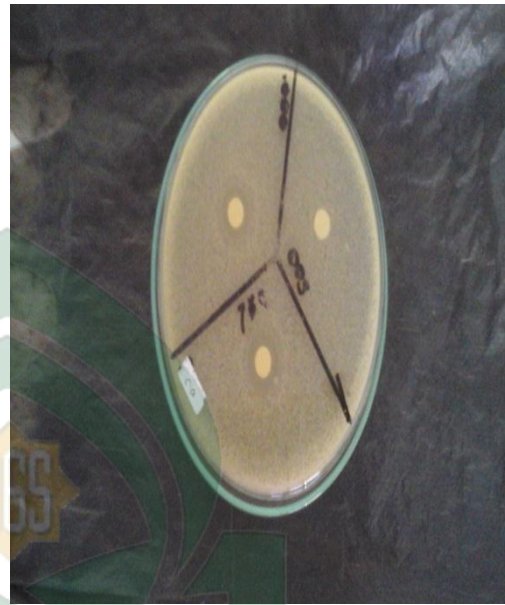
(BS)



(BS)



(CA)



(CA)

Keterangan :

SA : *Staphylococcus aureus*

ST : *Salmonella thypi*

EC : *Echerichia coli*

Vsp : *Vibrio sp*

CA : *Candida albicans*

PA : *Pseudomonas aeruginosa*

BS : *Bacillus subtilis*

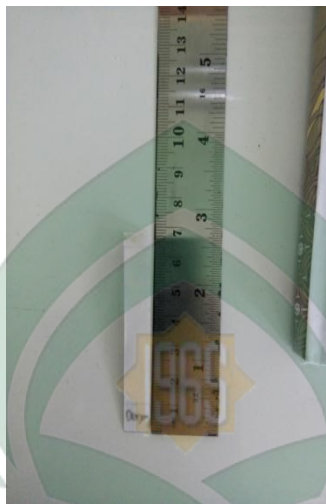
SE : *Staphylococcus epidermidis*

SM : *Streptococcus mutans*

Lampiran 14. Gambar hasil identifikasi fraksi aktif daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.)



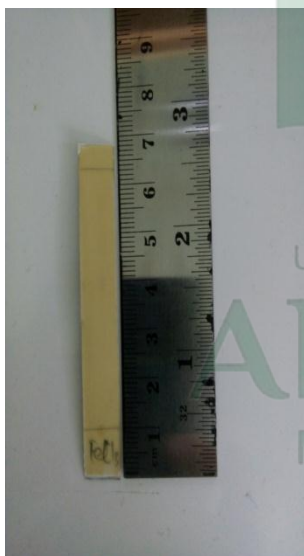
(A)



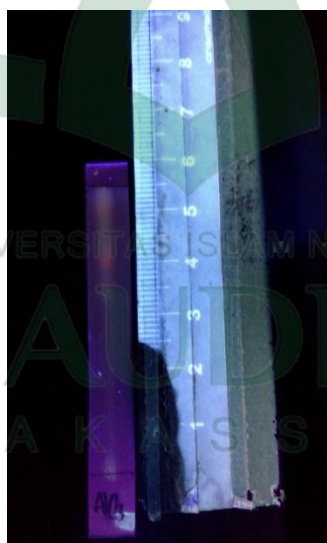
(B)



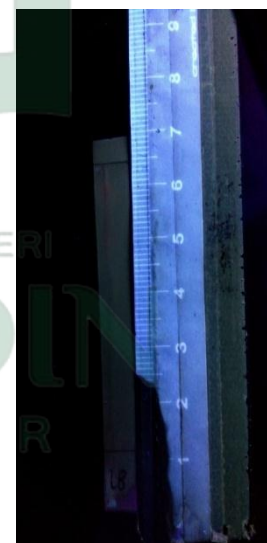
(C)



(D)



(E)



(F)

Keterangan:

A : H_2SO_4
 B : Dragendorff
 C : Kumarin
 D : Besi (III) Klorida

E : Aluminium klorida
 F : Lieberman-buchard

BIOGRAFI



Syamsuarni rasab lahir di daerah Jeneponto 21 tahun yang lalu, tepatnya tanggal 15 bulan desember tahun 1994. Anak ketiga dari tiga bersaudaradarpasangan H. Rajamuddin dan Hj. Saribanong.

Mengawali pendidikannya di SDN 1 binamu (Jeneponto).Setelah tamat SD, lanjut ke SMPN 1 Binamu (Jeneponto), dan setelah tamat SMP lanjut ke SMAN 1 binamu (Jeneponto).Sekarang sedang melanjutkanpendidikannyadijenjang yang lebihtinggi yaitu di Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar Jurusan Farmasi.Mulai menikmati menjadi seorang mahasiswi farmasi.

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
ALAUDDIN
M A K A S S A R